

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

KATEDRA FARMACEUTICKÉ TECHNOLOGIE

Studijní program: Farmacie



DIPLOMOVÁ PRÁCE

Sublingvální aplikace léčiv. 5

Sublingual drug delivery. 5

Lucie Čížinská

Vedoucí práce: doc. RNDr. Pavel Doležal, CSc.

Hradec Králové, květen 2012

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Hradci Králové dne

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucímu práce doc. RNDr. Pavlu Doležalovi, CSc. za jeho rady a připomínky při vypracovávání této diplomové práce. Také děkuji Mgr. Pavlu Berkovi za pomoc při zpracování dat ze systému ChemStation a Mgr. Petru Vrbatovi za přenos výsledků z HPLC softwaru pro výpočetní zpracování.

OBSAH

ABSTRAKT.....	3
ABSTRACT.....	4
1 ÚVOD.....	5
2 ZADÁNÍ PRÁCE.....	6
3 TEORETICKÁ ČÁST	7
3.1 Charakteristika sumatriptanu sukcinátu.....	7
3.1.1 Farmaceuticko-chemické vlastnosti.....	7
3.1.2 Farmakologické vlastnosti.....	7
3.1.3 Aplikační formy sumatriptanu sukcinátu	7
3.1.3.1 Perorální podání.....	7
3.1.3.2 Subkutánní podání.....	8
3.1.3.3 Nasální podání.....	8
3.1.3.4 Rektální podání.....	8
3.1.3.5 Sublingvální a bukalní podání.....	8
3.1.4 Triptany.....	9
3.2 Migréna	10
3.2.1 Popis záchvatu.....	11
3.2.2 Etiologie a patogeneze	11
3.2.2.1 Vaskulární teorie.....	11
3.2.2.2 Humorální teorie.....	11
3.2.2.3 Destičková teorie.....	11
3.2.2.4 Neurogenní teorie.....	12
3.2.2.5 Spouštěcí faktory.....	12
3.3 Sublingvální aplikace	12
3.3.1 Mechanismy transmukozální absorpce v dutině ústní.....	12
3.3.2 Výhody sublingvální aplikace léčiv	13
3.3.3 Nevýhody sublingvální aplikace léčiv	14
3.4 Anatomie sliznice dutiny ústní.....	14
3.5 Fyziologické bariéry ovlivňující propustnost sliznice úst.....	15
3.5.1 pH, objem, složení slin.....	15
3.5.2 Hlen	15
3.5.3 MCGs – membránová vrstva granulí	16
3.5.4 Doba obnovy epitelu.....	16
3.5.5 Mukoadheze	17
3.5.6 Transportní mechanismy.....	17
3.6 Lékové formy pro transmukozální podání.....	18

3.6.1	Technologie orálních stripů.....	18
3.6.2	Mukoadhezivní stripy obsahující sumatriptan sukcinát	20
3.7	Sublingvální tablety zolmitriptanu	22
3.8	Sumatriptan, látka hořké povahy.....	23
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	24
4.1	Použité látky	24
4.2	Přístroje	25
4.3	Pracovní postupy a metody.....	25
4.3.1	Permeace sumatriptanu z umělé sliny	25
4.3.1.1	Příprava donorového roztoku sumatriptanu sukcinátu.....	25
4.3.1.2	Příprava umělé sliny.....	26
4.3.1.3	Příprava sublingvální membrány.....	26
4.3.1.4	Provedení permeace.....	26
4.3.2	Permeace sumatriptanu z pufrů PB 7,4 a CB 3,9 a nanovlákných PVA membrán.....	27
4.3.2.1	Příprava donorových vzorků.....	27
4.3.2.2	Provedení permeace.....	27
4.3.3	Permeace sumatriptanu z litých PVA a PAA membrán a PB 7,4.....	28
4.3.3.1	Příprava roztoku sumatriptanu sukcinátu.....	28
4.3.3.2	Příprava litých membrán z PVA a PAA se sumatriptanem sukcinátem.....	28
4.3.3.3	Provedení permeace.....	29
4.3.4	Liberace sumatriptanu z litých membrán PVA a PAA.....	29
4.3.4.1	Provedení liberačního pokusu.....	29
4.3.5	Nanovlákné membrány PVA, PVA-PAA, PVA-Chi se sumatriptanem	30
4.3.6	Provedení liberace nanovlákných membrán	30
4.4	HPLC stanovení sumatriptanu sukcinátu.....	31
4.4.1	Příprava mobilní fáze.....	31
4.4.2	Chromatografické podmínky.....	31
4.4.3	Zpracování výsledků.....	31
5	DOKUMENTACE.....	33
6	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	61
7	ZÁVĚRY.....	67
8	POUŽITÉ ZKRATKY A SYMBOLY	68
	LITERATURA	69

ABSTRAKT

Práce předkládá podrobné informace o sumatriptanu sukcinátu, jeho terapeutickém využití a aplikačních formách. Zvláště si přitom všímá sublingválního podání. Následně uvádí souhrnný popis migrény jako patofyziologické jednotky.

Experimentální část je zaměřena na hodnocení in vitro transmukozální permeace sumatriptanu sublingvální membránou prasete. V první části pokusů byl sumatriptan sukcinát aplikován jako roztok ve třech vodných vehikulech, v druhé části v podobě nanovlákných nebo litých polymerních membrán. Akceptorovou fází byl vždy fosfátový pufr o pH 7,4. Stanovení permeovaných množství sumatriptanu bylo provedeno pomocí HPLC.

Pro 3% roztok sumatriptanu z fosforečnanového pufru pH 7,4 a citronanového pufru pH 3,4 byly příslušné hodnoty fluxu J na úrovni $50 \text{ } [\mu\text{g}/\text{cm}^2\cdot\text{h}^{-1}]$, resp. $40 \text{ } [\mu\text{g}/\text{cm}^2\cdot\text{h}^{-1}]$. Výrazně nízká byla permeace z 1% roztoku v umělé slinné tekutině.

Důležité výsledky přineslo vyhodnocení fluxů sumatriptanu při permeaci z polymerních membrán. Velmi nízké hodnoty fluxů poskytly lité membrány z PAA s obsahem 10 % sumatriptanu $J = 0,29 \text{ } \mu\text{g}/\text{cm}^2\cdot\text{h}^{-1} \pm 0,07$. Překvapivě vysoké byly hodnoty fluxu z PVA s obsahem 10 % sumatriptanu v lité membráně $J = 6,5 \text{ } \mu\text{g}/\text{cm}^2\cdot\text{h}^{-1}$ a 5 % sumatriptanu v nanovlákněné membráně $J = 1,3 \text{ } \mu\text{g}/\text{cm}^2\cdot\text{h}^{-1}$

Celkově uvolnitelné množství z dalších 3 testovaných nanovlákných membrán s obsahem 5 % sumatriptanu v liberačním pokusu činilo vždy více než 50 %. Konkrétně u PVA-chitosanové nanomembrány a PVA nanomembrány asi 60 % a asi 50 % u PVA nanomembrány z jedné strany pokryté PAA.

ABSTRACT

Thesis brings detailed information about sumatriptan succinate, its therapeutic use and dosage forms. In particular, it notes its sublingual administration. Then it provides a summary description of migraine as a pathophysiological unit.

The experimental part is focused on the evaluation of in vitro transmucosal permeation of sumatriptan through porcine sublingual membrane. In the first set of experiments sumatriptan succinate was used in three aqueous vehicle in the second part as nanofibre or cast polymer membranes. Acceptor phase was always a phosphate buffer pH 7.4. Determination of sumatriptan permeated was performed by HPLC. For a 3% sumatriptan phosphate buffer pH 7.4 solution and citrate buffer pH 3.4 were pertinent values of fluxes J about 50 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2\cdot\text{h}^{-1}$], about 40 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2\cdot\text{h}^{-1}$], respectively. Very low permeation was found at 1% solution sumatriptan in artificial salivary fluid.

The evaluation of sumatriptan fluxes in transmucosal permeation from polymeric membranes brought important results. Very low fluxes provided the cast of polyacrylic acid (PAA) membranes containing 10% of sumatriptan: $J = 0.29 \pm 0.07$ [$\mu\text{g}/\text{cm}^2\cdot\text{h}^{-1}$]. Surprisingly high values were measured from polyvinylalcohol (PVA) cast membrane containing 10% of sumatriptan $J = 6.5$ [$\mu\text{g}/\text{cm}^2\cdot\text{h}^{-1}$] and from the nanofiber PVA membrane $J = 1,5$ [$\mu\text{g}/\text{cm}^2\cdot\text{h}^{-1}$]

The total disposable amount of released drug from another 3 tested nanofibre membranes was always high. Specifically, the PVA and the PVA- chitosane nanomembranes released about 60% and about 50% for PVA nanomebranes with one side covered with PAA.

1 ÚVOD

Migréna je onemocnění, které se vyznačuje akutní záchvatovitou bolestí hlavy. Tímto onemocněním trpí poměrně velké procento populace. Při akutní atace migrény je velice často snížena kvalita života a snižena je i schopnost jakékoliv činnosti. Výdaje na léčbu migrenika jsou značné, avšak výsledky často neuspokojivé. Z toho důvodu je vývoj sublingvální lékové formy nanejvýše žádoucí a opodstatnitelný. Úspěšná realizace sublingválního léčivého přípravku by přinesla nejen rychlý nástup účinku, ale i efektivitu srovnatelnou s intravenózní aplikací.

Tato diplomová práce se zabývá problematikou sublingvální aplikace léčiv a její realizací pro sumatriptan sukcinát. Experimentálními pokusy byl ověřen potenciál sumatriptanu sukcinátu permeovat přes sublingvální sliznici prasete *in vitro*. Byla zkoumána intenzita permeace v závislosti na proměnných podmínkách (pH akceptorové a donorové části, použité pufrы, koncentrace sumatriptanu, nanášený objem na membránu). Výsledky experimentálních pokusů jsou podkladem dalšího výzkumu a vývoje na Katedře farmaceutické technologie.

2 ZADÁNÍ PRÁCE

1. V teoretické části uvést bližší specifikace sumatriptanu sukcinátu, terapeutické využití a aplikační formy, zvláště s přihlédnutím k sublingválnímu podání. Dále uvést základní popis migrény jako patofyziologické jednotky.
2. V experimentální části:
 - 2.1 Preparovat sublingvální membrány prasete domácího pro permeační in vitro pokusy
 - 2.2 Zhotovit kalibrační vzorky pro naměření kalibrační přímky sumatriptanu sukcinátu a upravit chromatografické podmínky pro jeho rychlé sériové HPLC stanovení. Připravit pufrý pro mobilní fázi HPLC
 - 2.3 Připravit donorové roztoky sumatriptanu sukcinátu v odstupňovaných koncentracích a různých pufovaných vehikulech pro dílčí permeační pokusy, připravit zásobní roztok umělé sliny
 - 2.4 Připravit lité polymerní membrány s obsahem sumatriptanu sukcinátu
 - 2.5 Uskutečnit permeační pokusy a stanovit hodnoty fluxu průniku sumatriptanu přes sublingvální membránu in vitro z donorových vzorků:
 - umělé slinné tekutiny
 - fosforečnanového pufru pH 7,4
 - citrátového pufru pH 3,4
 - nanovlákných membrán z PVA a PAA
 - litých membrán
 - 2.6 Realizovat liberační pokusy se vzorky nanovlákných a litých membrán
 - 2.7 Formulovat předběžné závěry

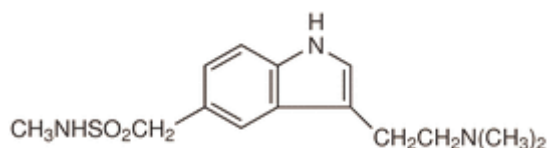
3 TEORETICKÁ ČÁST

3.1 Charakteristika sumatriptanu sukcinátu

3.1.1 Farmaceuticko-chemické vlastnosti

Český lékopis popisuje sumatriptan sukcinát jako bílý nebo téměř bílý prášek, snadno rozpustný ve vodě, mírně rozpustný v methanolu a prakticky nerozpustný v dichlormethanu.¹ Molekulová hmotnost sumatriptanu sukcinátu je 413,5.

Subkutánní injekce má pH v rozmezí 4,2 až 5,3 a přibližně pH 5,5 má nasální sprej. Tato API jeví snadnou rozpustnost ve vodě a ve fyziologickém roztoku. Subkutánní injekce sumatriptanu sukcinátu má osmolalitu 291 mOsm, nasální sprej má osmolalitu 372 mOsm (při obsahu 5 mg API) a 742 mOsm (při obsahu 20 mg API).²



Obr. 3.1: Strukturní vzorec sumatriptanu (Martindale³)

3.1.2 Farmakologické vlastnosti

Sumatriptan a sumatriptan sukcinát jsou řazeny do skupiny antimigrenózních léčiv. V rámci této třídy spadají do užší podskupiny agonistů serotoninových 5-HT₁ receptorů. Jsou indikovány při těžkém a středně těžkém akutním záchvatu migrény.

Tento a další triptany působí jako agonisté na 5-HT_{1d} a 5-HT_{1b} receptorech. Hlavní účinek triptanů spočívá ve vazokonstrikci intrakraniálních cév. Dalším důležitým efektem je snížení dráždivosti nervu trigeminu a taktéž dochází k utlumení uvolňování neuropeptidů ze sensorických vláken.⁴

Sumatriptan sukcinát je kromě akutních migrenózních atak dále indikován při klusterových bolestech hlavy.⁵

3.1.3 Aplikační formy sumatriptanu sukcinátu

3.1.3.1 Perorální podání

Sumatriptan sukcinát je podáván ve formě tablet. Při akutní atace migrény je dospělému jedinci podávána dávka 25 až 100 mg. Následující dávka může být podána nejdříve

s odstupem dvou hodin od první dávky. Maximální denní dávka je 200 mg. Nástup prvního pozorovatelného účinku po užití tablety lze sledovat do 30 minut. Maximální úlevy od migrenózních příznaků je obvykle dosaženo během dvou hodin. Biologická dostupnost po perorálním podání je 15 %. Takto nízké číslo je přisuzováno značnému first-pass metabolismu v játrech.

3.1.3.2 Subkutánní podání

Injekční forma sumatriptanu sukcinátu je určena pouze pro podkožní podání. Intravenózní a intramuskulární aplikace je přísně zakázána. Doporučená dávka pro dospělé při akutní atace migrény či při klusterových bolestech je 6 mg. Další subkutánní injekci je možné podat s odstupem nejméně jedné hodiny od aplikace první injekce. Maximální jednotlivá dávka je 6 mg. Maximální denní dávka je 12 mg. Zmírnění obtíží nastává do 10 minut a maximálního účinku je dosaženo během jedné až dvou hodin od podání. Biologická dostupnost je 97 %.

3.1.3.3 Nasální podání

V této aplikační formě se sumatriptan sukcinát nepoužívá. K léčbě akutního záchvatu migrény se používá sprej, který obsahuje sumatriptan jako API, nikoli jeho sůl. Doporučená dávka je 5 až 20 mg. Je možno dávku opakovat nejdříve s odstupem dvou hodin od dávky první. Maximální denní dávka je 40 mg. Biologická dostupnost je okolo 25 %.²

3.1.3.4 Rektální podání

V některých zemích Evropy a Asie jsou dostupné 25 mg čípky obsahující sumatriptan. Maximální denní dávka je 50 mg.⁶

Rektální podání je velice výhodné, jsou-li přítomny vedlejší příznaky migrény, jako je nauzea a zvracení. Maximální účinek nastává po podání sumatriptanu rektálně do dvou hodin.⁷

3.1.3.5 Sublingvální a bukální podání

Prozatím není registrovaná žádná sublingvální léková forma obsahující sumatriptan či sumatriptan sukcinát. Probíhají však mnohé aktivity směřující k vývoji těchto forem. Bylo odstartováno několik klinických hodnocení, zabývajících se touto problematikou.

Doposud nebyla registrována žádná aplikační sublingvální forma sumatriptanu. Vývojové laboratoře se sice touto otázkou zabývají, bližší informace o vývoji této sublingvální aplikační formy pro sumatriptan sukcinát jsou však prakticky nedostupné,

protože si je každá farmaceutická firma přísně chrání se záměrem patentovat je a přijít na trh jako první.

Terapie migrény svým klinickým profilem a potřebou dalekosáhle převyšuje vysoké finanční nároky, které obnáší vývoj orálních transmukozálních lékových forem. Z toho důvodu už je možno na trhu nalézt registrované přípravky, či alespoň probíhají studie zaměřené na transmukozální aplikaci triptanů: sumatriptan sukcinát ve formě stripu, zolmitriptan ve formě sublingválních tablet, rizatriptan ve formě tablety (oplatky, wafers) rozpadající se v ústech. Triptany mají velice podobné farmakologické i chemické vlastnosti, tudíž bude jejich formulace do těchto lékových forem vždy velice obdobná.
8,19, 22

Perorální tablety obsahující sumatriptan sukcinát mají mnoho nevýhod. Patří mezi ně nízká biologická dostupnost, vysoký first-pass metabolismus, nemožnost aplikace při onemocněních gastrointestinálního traktu, nemožnost aplikace při vomitu, který je velmi často přítomen při migréně. Nevýhodou nosní aplikace sumatriptanu je nízký retenční čas látky v místě absorpce. Nevýhodou subkutánního podání je nepohodlnost, bolestivost a často neschopnost pacienta aplikovat si injekci sám. Tyto všechny důvody vyvíjí velký tlak na farmaceutický průmysl pro vývoj účinnější a efektivnější lékové formy, sublingvální a bukalní.⁸ Další informace z výzkumných a vývojových prací jsou obsahem odstavce 3.6.2.

3.1.4 Triptany

Triptany jsou specifickými selektivními agonisty serotoninových 1b/1d receptorů. Jsou indikovány u akutních středních a těžkých migrenózních záchvatů. Nespádají do léčby profylaktické. Jejich objev znamenal významný přerod v terapii migrény. Představují kauzální léčbu. V roce 1991 byl na trh uveden první zástupce skupiny triptanů, sumatriptan. Po dobu 6 let si zachovával zcela dominantní postavení. V roce 1997 přibyl na trh zolmitriptan a aratriptan, o rok později rizatriptan. V roce 2000 byl registrován eletriptan a almotriptan a rok 2001 přinesl frovatriptan. Sumatriptan patří dodnes mezi jedny z nejčastěji předepisovaných triptanů. Je považován za „zlatý standard“. Nabízí široké spektrum lékových forem, rychlý nástup účinku, vysokou účinnost a toleranci. Na druhou stranu má nejkratší biologický poločas a nejnižší biologickou dostupnost v porovnání s ostatními triptany. Taktéž je pacienty popisována častá rekurence bolesti.

Příklady preparátů se sumatriptanem či se sumatriptanem sukcinátem na českém trhu jsou: Cinie® (tableta), Imigran® (injekční roztok), Rosemig® (nosní sprej,

potahovaná tableta), Rosemig Sprintab® (tableta pro přípravu perorální suspenze), Sumigra® (potahovaná tableta).⁹

Léčivo	Počet ($\Sigma = 71$)	Podíl	Dobrá efekt	Nadužívání
Sumatriptan	46	64,8 %	26	15
Eletriptan	26	36,6 %	20	4
Zolmitriptan	12	23,0 %	12	0
Naratriptan	5	7,0 %	4	0
Frovatriptan	1	1,4 %	1	0

Tab. 3.1: Akutní léčba migrény pomocí triptanů u 71 pacientů po průměrně 65 měsících léčby; na 1 pacienta připadá průměrně 1,3 různých triptanů.¹⁰

V tabulce 3.1 jsou uvedeny výsledky z roku 2008 týkající se souboru pacientů zařazených do metodiky zkoumání a vyhodnocování akutní léčby migrény pomocí triptanů na 1. neurologické klinice LF MU a FN u sv. Anny v Brně.¹⁰

3.2 Migréna

Bolesti hlavy patří mezi jedny z nejčastějších potíží, které komplikují život lidem už od pradávna. Podle mezinárodní klasifikace se bolest hlavy dělí na primární a sekundární. Výsadní postavení v primárních bolestech hlavy má migréna. Nejstarší zmínky o migréně pochází již z doby 4 až 3 tisíce let př. n. l., toto stáří je totiž přisuzováno sumerské destičce s popisem migrenózních komplikací. Předpokládá se, že slovo „migréna“ se vyvinulo ze slova „hemikrania“, které poprvé užil kolem roku 200 n. l. Galén k popisu migrenózní bolesti hlavy. Léčba migrény je odjakživa velkým ekonomickým, sociálním a medicínským problémem. Náklady na léčbu jednoho migrenika se pohybují v rozmezí 200 až 800 dolarů ročně. Zásadní význam se připisuje objevu léčiv nazývaných triptany a jejich následnému zavedení do klinické praxe.

3.2.1 Popis záchvatu

Migréna je popisována jako opakující se záchvatovitá bolest hlavy. Jedná se o progresivní multifaktoriální chronické onemocnění. Záchvat trvá přibližně 4 až 72 hodin a je typický hemikranií, což je bolest postihující polovinu hlavy. Bolest je pulsující, střední nebo silné intenzity. Dále bývá přítomen další doprovodný příznak, avšak daleko častěji je možné pozorovat kombinaci většího počtu doprovodných příznaků, jakými jsou nauzea, zvracení, fotofobie (přecitlivělost na světlo), fonofobie (přecitlivělost na hluk), osmofobie (přecitlivělost na pachy a vůně), nemožnost vykonávat běžnou pohybovou aktivitu, průjem, poruchy termoregulace, vzestup nebo pokles krevního tlaku a pulsu. Migréna může být s auroou či bez aury. Aura obvykle trvá 5 až 20 minut a po jejím skončení či ještě za jejího trvání se dostavuje bolest hlavy.

3.2.2 Etiologie a patogeneze

3.2.2.1 Vaskulární teorie

Příčinou záchvatu je spazmus velkých cerebrálních tepen, který ve svém důsledku způsobí snížení krevního průtoku v mozku. Vznikají ložisková ischemická centra, jež jsou příčinou aury. Metabolické nároky nervové tkáně jsou následně pokryty dilatací mozkových arterií a arteriol jako reakce na ischemii. Nervová zakončení arterií a arteriol jsou dilatací natahována a drážděna.

3.2.2.2 Humorální teorie

Zde má dominantní postavení serotonin jako vazoaktivní látka, způsobující vazospasmus a tedy i ischemii. Jeho hlavním metabolitem je kyselina 5-hydroxyindoloctová, která je ve zvýšené míře vylučována močí během záchvatu. S poklesem hladiny serotoninu se rozvíjí bolestivá vazodilatace. Serotonin je považován za hlavní humorální faktor, který lze detekovat ve zvýšené koncentraci před záchvatem migrény, a s pociťováním bolesti hlavy a dalších komplikací hladina serotoninu rapidně klesá.

3.2.2.3 Destičková teorie

Mnoho migreniků má abnormální funkci trombocytů. Ve stavu aury se tvoří destičkové agregáty a destičky začnou uvolňovat serotonin. Následuje opět vazokonstrikce. Dále se dostavuje fáze bolesti, při které serotonin a další neuropeptidy zcitlivují receptory pro bolest a vzniká sterilní perivaskulární zánět. Neuropeptidy, za tuto reakci zodpovědné, jsou uvolňovány aktivací trigeminovaskulárního komplexu, jmenovitě to je substance P, bradykinin, histamin, kalcitonin, neurokinin A a další.

3.2.2.4 Neurogenní teorie

Tato teorie slučuje teorii humorální a teorii destičkovou. Za pravou příčinu je považována primární záchvatovitá porucha mozkového parenchymu. Aktivací migrenózního centra v mozkovém kmeni, v *locus coeruleus* a *nucleus raphe dorsalis*, dochází k hypoperfuzi mozkové kůry a k aktivaci trigeminovaskulárního komplexu, uvolňujícího neuropeptidy bolesti. Ty následně ještě více prohlubují vazodilataci jako reakci na hypoperfuzi mozkové kůry. Konečný výsledek těchto procesů je sterilní perivaskulární zánět.

3.2.2.5 Spouštěcí faktory

Na vzniku migrény se podílí jak vnitřní, tak vnější faktory. Mezi často udávané zevní faktory patří atmosférické vlivy, stres, spánkový režim, dietní chyby, senzorické podněty, hormonální antikoncepce a další.⁹

3.3 Sublingvální aplikace

3.3.1 Mechanismy transmukozální absorpce v dutině ústní

Aplikace léčiv za využití sliznice dutiny ústní je v posledních letech zkoumána jako výhodná alternativa pro systémové podávání léčiv. Hlavní absorpční plochy v dutině ústní jsou část bukální, část sublingvální, plocha měkkého a tvrdého patra a plocha dásní. Bukální slizniční tkáň, sliznice sublingvální a ventrální plochy jazyka tvoří asi 60 % povrchové sliznice úst. Z tohoto důvodu je právem považována za důležitý směr zájmů pro systémovou aplikaci léčiv právě bukální a sublingvální část.

Obě sliznice umožňují vstřebávání léčiv ve větší míře v porovnání s ostatními sliznicemi v ústech. Povrch orální sliznice tvoří zhruba 200 cm². Povrch sliznice gastrointestinálního traktu je 350 000 cm² a povrch kůže je 20 000 cm². Podle těchto čísel se jeví transmukozální aplikace jako nezajímavá, avšak bereme-li v úvahu značnou vaskularizaci s rychlým krevním prouděním, zejména u sublingvální plochy, která je navíc tenčí než ostatní plochy orální sliznice, a nepřítomnost *stratum corneum* v celé dutině ústní (vyskytuje se u kožní bariéry), je zřejmé, že koncentrace vhodného léčiva bude v krevním řečišti velice rychle narůstat. Léčivo vhodných fyzikálně-chemických vlastností se přes transmukozální, konkrétně přes sublingvální bariéru dostává daleko rychleji v porovnání s ostatními bariérami v těle. Léčivo se v krevním řečišti objevuje už během první minuty a maximální koncentrace v krvi je u většiny léků dosažena během 10 až 15 minut.

Důležitým faktorem jsou fyzikálně-chemické vlastnosti léčiv. Důraz je kladen na

dobře zvolenou lipofilitu léku a jeho rozpustnost. Udává se, že přes sublingvální membránu může pronikat pouze několik miligramů API. Ve většině případů musí API, která se vstřebává z podjazykové plochy, nejprve projít slinným povlakem, lipofilní buněčnou membránou a následně hydrofilní vnitřní výplní epitelálních buněk. Vyskytují se zde bariéry obou polarit. Důležitou roli hraje bariéra enzymatická, která se nachází na povrchu sliznice. Absorpce léčiva podjazykovou plochou je v převážné většině případů umožněna pasivní difúzí. Absorpce léčiva je závislá na mnohých faktorech: koncentrace léčiva, složení léčivého přípravku, doba trvání kontaktu léčiva se slizniční plochou, vaskularizace dané plochy a rychlost průtoku krve, ionizace léčiva (ionizované látky neprocházejí pasivní difúzí přes membrány), pH v místě vstřebávání (pH slin je obvykle 6,5 až 6,9, jsou tedy vhodnější léčiva s vyšším pKa), velikost molekuly léčiva, difúzní a rozdělovací koeficient, tloušťka tkáně a velikost absorpční plochy. V neposlední řadě též patologické stavy sliznice mohou žádaný záměr zkomplikovat.

Vývoj sublingválních forem a jejich realizace je finančně náročná. Vhodný kandidát pro sublingvální lékovou formu musí mít nejen výhodné fyzikálně-chemické vlastnosti, ale i významný klinický potenciál, přednostně se uplatní u nemocí, které se vyznačují akutním charakterem a mají velký společensko-ekonomicko-medicínský dopad. V takových případech se sublingvální forma jeví jako přínosná. Transmukozální aplikace se často užívá u analgetik, antidiabetik, antibiotik a u léčiv používaných při angině pectoris. Nově je nalezen určitý potenciál i ve skupině antimigrenik, kdy je rychlý nástup účinku při probíhajícím záchvatu migrény důležitým požadavkem.¹¹

3.3.2 Výhody sublingvální aplikace léčiv

Velkou předností sublingválního podání léčiva je jeho potenciálně zvýšená biologická dostupnost. Ta je dána nejen bohatou prokrveností a tenkou plochou sliznice této partie, ale i přímým přestupem léčiva do krevního oběhu. Tím odpadá částečná degradace léčiva při prvním průchodu játry, a nedochází tak ke snížení koncentrace účinné látky ještě před vstupem do centrálního krevního řečiště. Není tedy nutné přílišné navyšování množství léčiva v léčivém přípravku. Odpadá tak riziko mnoha takto vzniklých nežádoucích účinků. Farmaceutická technologie neustále zkoumá a vyvíjí nové lékové formy, které zajistí jednak delší setrvání léčiva v podjazykovém sektoru, a jednak možnost okamžitého přerušení dodávky a vstřebávání léčiva (například spolknutí tablety a její následné degradaci v trávicích cestách, oproti možnosti strhnutí mukoadhezivních náplastí apod.). Další nespornou výhodou je komfortnější a neinvazivní aplikace v porovnání s aplikací intravenózní, intramuskulární, subkutánní atd. Sublingválním podáním je zajištěn rychlý

nástup účinku, který se svými parametry velice blíží aplikaci injekční. Z toho důvodu se sublingvální aplikace volí zejména pro léčbu akutních komplikací a jako vhodná alternativa injekční aplikace. U pacientů, kteří mají problémy s polykáním (patologické komplikace, geriatric a pediatrie) či trpí onemocněním, které provází nauzea, zvracení a jiné střevní potíže, se jeví sublingvální aplikace taktéž jako vhodná alternativa. Pro podjazykovou aplikaci není potřeba žádné specializované péče ani technických zařízení, a tak se tato forma podání stává i méně ekonomicky náročnou.^{11,12}

3.3.3 Nevýhody sublingvální aplikace léčiv

Pohyby jazyka, tedy mechanické namáhání, a tvorba slin velice ztěžují udržení dané lékové formy v potřebném kontaktu s absorpční plochou. Již zmíněná tvorba slin a jejich složení způsobuje buď částečnou či úplnou degradaci účinných látek, nebo jejich chemickou přeměnu. Enzymatická bariéra na povrchu sliznic komplikuje vstřebávání látek, které jsou chemickou podstatou bílkoviny či peptidy. Absorpce je ovlivňována také přítomností zánětu sliznice (kyselé pH), puchýři a jinými poraněními a patologickými stavy. Jedná-li se o látky hořké (sumatriptan), je nutností technologická úprava lékové formy.¹¹

Sliny neustále ředí koncentraci podaného léčiva. Navíc mohou způsobit nechtěné vyplavení lékové formy a její následné spolknutí.¹³

3.4 Anatomie sliznice dutiny ústní

Sliznice orální dutiny obsahuje vrstevnatý dlaždicový epitel. Tato sliznice je v rámci úst dělena na sliznici bukální, sublingvální, sliznici pokrývající dásně, tvrdé, měkké patro a rty. Mezi hlavní úlohy epitelu patří ochrana tkání nalézajících se pod epitelem před škodlivými agens a zabránění úniku tekutin z těchto tkání. Pod vrstvou epitelu je situovaná bazální membrána a ještě níže pojivová tkáň, kterou tvoří lamina propria a submukóza.¹⁴

Úlohou bazální membrány je tvořit mechanické rozhraní, a zároveň zajišťovat pružné, avšak pevné spojení epitelu a pojivové tkáně (konkrétně s *lamina propria*). Bazální membrána má schopnost se neustále dělit. Její buňky mění svůj tvar, zvětšují se, zplošťují a spějí k povrchu. Stávají se buňkami epiteliálními, které pozbyly schopnost se dělit.¹⁵ *Lamina propria* obsahuje kolagenní vlákna, buňky pojivové tkáně, hladkých svalů a cévy.¹³ Submukóza leží nejspodněji a obsahuje cévy a nervy.¹⁴ Epitel dutiny ústní může být jak keratinizovaný, tak nekeratinizovaný, záleží na lokaci.¹³

V ústech nalezneme tři druhy sliznice. Zaprvé sliznici specializovanou (asi 15 %

plochy), která se nachází na hřbetu jazyka a jejíž hlavní funkcí je chuťové vnímání. Tato sliznice obsahuje jak keratinizované části, tak části bez keratinu. Druhým typem je sliznice žvýkácí (25 %), která zahrnuje tvrdé patro a dásně. Její buňky jsou keratinizované a jsou chemicky a mechanicky odolnější. Posledním typem je sliznice výstelková (60 %), nekeratinizovaná, zahrnující měkké patro, bukální a sublingvální plochu.¹⁴

Krevní zásobení orální mukózy zajišťuje *arteria carotis externa*. Sliznice tváří je z velké míry vyživována bukální tepnou, zadní alveolární tepnou, koncovými větvemi lící tepny a tepnou infraorbitální.¹⁵

3.5 Fyziologické bariéry ovlivňující propustnost sliznice úst

3.5.1 pH, objem, složení slin

Sliny, vodné tekutiny, jsou secernovány příušní, podčelistní, podjazykovou slinnou žlázou a větším množstvím drobných slinných žlázek. Žláza příušní a podčelistní secernuje vodnatý sekret, na rozdíl od viskózních slin s omezenou enzymatickou aktivitou, které produkuje žláza podjazyková. Denní sekrece se pohybuje v rozmezí 0,5 až 2 litry. Sliny mají pufrující schopnost v rozmezí pH 5,5 až 7,0 a obsahují 1 % anorganických a organických složek. Sliny vytvářejí prostředí pro rozpouštění léčiv (v ústech je neustále přítomno 1,1 ml slin), zejména pro léčiva hydrofilní povahy nebo léčiva technologicky zpracovaná s hydrofilním polymerem.¹⁴

Na druhou stranu neustálá produkce slin vede k odplavování a snižování koncentrace léčiva. Za normálních fyziologických podmínek mají sliny konstantní průtok 1 až 2 ml za minutu.¹²

Sliny obsahují proteolytické enzymy jako esterázy, karbohydrázy, fosfatázy a další, které zodpovídají za enzymatickou degradaci mnohých látek.¹⁵

3.5.2 Hlen

Hlen, viskoelastický hydrogel, je vylučován společně se slinami pomocí malých i velkých slinných žláz. 95 až 99 % hlenu tvoří voda a 1 až 5 % tvoří glykoprotein mucin. Lineární řetězce mucinu vytvářejí prostorovou síť. Mucin velkou měrou ovlivňuje buněčnou mukoadhezi, které se využívá k dosažení delšího retenčního času léčiva v místě aplikace. Při fyziologickém pH nese mucin záporný náboj. Za tento náboj je zodpovědná kyselina sialová a sulfátové zbytky. Díky tomu se mucin (gelovitá hmota) váže na povrch epiteliálních buněk.^{14, 16}

Mucin obsahuje také malé množství enzymů (lysosym), polysacharidů, proteinů, lipidů, elektrolytů a nukleových kyselin.¹⁵

3.5.3 MCGs – membránová vrstva granulí

Tyto malé husté lipofilní korpusekule se nacházejí v epitelu orální mukózy. Jsou uloženy pod povrchovými epiteliálními buňkami, v jejich těsné blízkosti. MCGs vyplňují mezibuněčné prostory, a zvyšují tím spojitost epiteliálních vrstev sliznice. Také svou lipofilitou zvyšují hydrofóbní charakter těchto vrstev, a tím komplikují přestup látek hydrofilních. Tímto se MCGs nemalou měrou podílejí na propustnosti léčiv. MCGs jsou obsaženy jak v keratinizovaných, tak nekeratinizovaných epitelích, tudíž se keratinizaci epitelu nepřisuzuje dominantní význam v ovlivnění propustnosti orální bariéry, přesto keratinizace jistou úlohu sehrává.¹³

Keratinizovaný epitel obsahuje neutrální lipidy (ceramidy, acylceramidy) a má hydrofobní vlastnosti, tedy je poměrně nepropustný pro vodné tekutiny. Naproti tomu nekeratinizovaný epitel obsahuje neutrální polární lipidy (estery cholesterolu, estery cholesterolu a glykosyl ceramidů), a tudíž se stává více propustný pro hydrofilní látky.¹⁴

3.5.4 Doba obnovy epitelu

Neustálá obnova povrchového epitelu má vliv především na léčivé formy založené na principu mukoadheze.

Tkáň	Keratin	Tloušťka [μm]	Doba obnovy	Plocha [cm ²]	Propustnost	Doba retence	Průtok krve
Bukální	ne	500-600	5 až 7 dnů	50,2	střední	střední	20,3
Sublingvální	ne	100-200	20 dnů	26,5	velmi dobrá	špatná	12,2
Dásně	ano	200	-	-	špatná	střední	19,5
Tvrdé patro	ano	250	24 dnů	20,1	špatná	velmi dobrá	7,0

Tab. 3.2: Charakteristika sliznice dutiny ústní.¹⁴

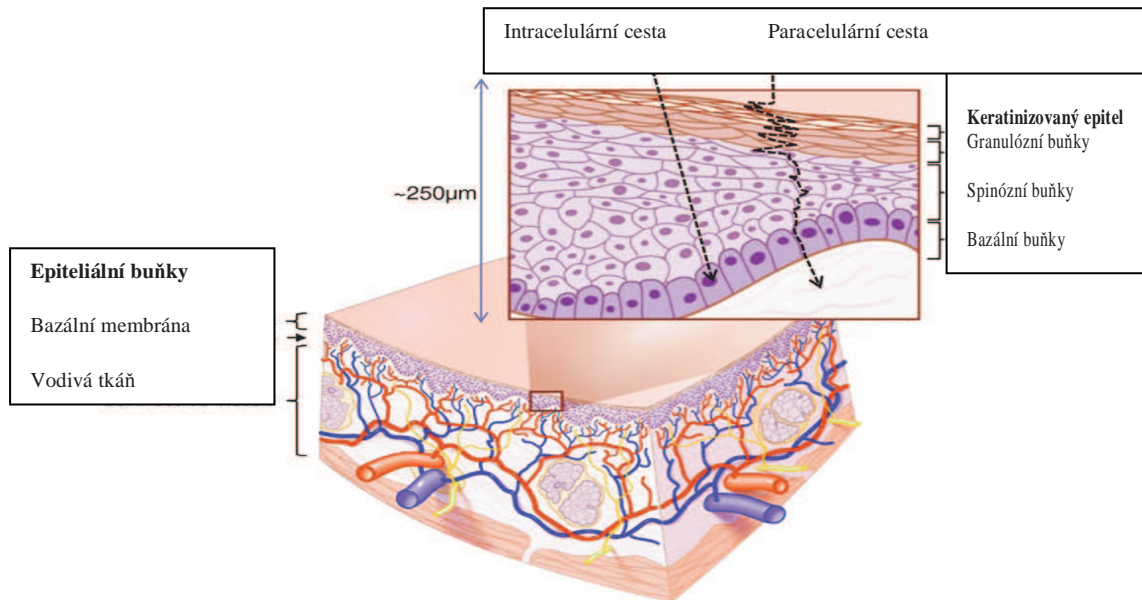
V tabulce jsou uvedeny jednotlivé charakteristické parametry pro konkrétní orální sliznice. Je zřejmé, že sublingvální aplikace je nejvýhodnější při potřebě rychlého nástupu účinku léčiva, a naopak, je-li požadováno pozvolné uvolňování léčiva v závislosti na čase, tato aplikace vhodná není.¹³

3.5.5 Mukoadheze

Termín mukoadheze by neměl být zaměňován s termínem bioadheze. Přílnavost dvou materiálů, z nichž alespoň jeden je materiálem biologickým (biologická membrána), se nazývá bioadheze. Tento biologický povrch může být tvořen epiteliální tkání nebo hlenem. Jestliže tomu tak je a dochází k přilnutí k syntetickému či přírodnímu polymeru, používá se termín mukoadheze. Je zde popisována tzv. difúzní teorie, která říká, že na základě koncentračního gradientu pronikají řetězce polymeru do mukusu, a naopak glykoproteinové řetězce hlenu pronikají do matrice polymeru až do dosažení rovnováhy.^{16, 17}

Mukoadheze je zprostředkována pomocí nekovalentních vazeb, konkrétně vazbami vodíkovými a iontovými. Mukoadhezivní polymery zajišťují intimní kontakt se sliznicí. Některé polymerové matrice mají schopnost zvyšovat paracelulární přestup léčiva nebo inhibovat funkci enzymů, které jsou přítomny v ústech. Mezi často používané a definované polymery patří polyakryláty a chitosan. Polyakryláty (karbomery) využívají ke zprostředkování mukoadheze vodíkových vazeb, chitosan vazeb iontových.¹⁸

3.5.6 Transportní mechanismy



Obr. 3.2: Anatomie sliznice dutiny ústní a transportní mechanismy.¹⁹

Rozlišujeme tři transportní mechanismy:

- 1) Pasivní difúze (zahrnující transcelulární i paracelulární cestu)
- 2) Speciální přenašeče
- 3) Endocytóza a exocytóza

Pasivní difúzí nejsnadněji procházejí látky lipofilní povahy, neionizované, s nízkou molekulární hmotností. Látky, jejichž hodnota pKa je vyšší, procházejí přes slizniční bariéru lépe.¹⁹

Pasivní difúze je nejčastějším absorpčním mechanismem pro oblast dutiny ústní. Jestliže látka prochází kolem buněk a mezibuněčnými prostory, jedná se o transport paracelulární. MCGs (membránová vrstva granulí, viz 3.5.3) jsou zodpovědné za lipidickou výplň mezi buňkami, čímž je zkomplikován paracelulární přechod polárních látek a makromolekul. Naopak je tím dána šance průniku lipofilních látek. Mezi buňkami epiteliální vrstvy jsou tyto lipidické cesty, ovšem jsou zde i vodní póry, ve kterých bude právě taková koncentrace léčiva, která odpovídá rozdělovacímu koeficientu této účinné látky a velikosti její molekuly. Tato cesta se jeví jako výhodná pro léčiva povahy hydrofilní. Deriváty kyseliny polyakrylové a chitosan jsou poměrně často používány jako enhacery neboli absorpční stimulanty. Krátkodobě dokážou změnit propustnost sliznice díky otevření a rozrušení těsných mezibuněčných spojů.¹¹

Při transcelulárním transportu přechází látka skrze jednotlivé buňky. Tato trasa je výhodná pro léčiva, která působí na intracelulární cíle.¹⁹ Tato léčiva musí mít vhodný rozdělovací a difúzní koeficient, neboť musí nejprve projít lipofilní membránou buněk a následně jejich hydrofilní výplní.¹¹

Glukóza a monokarboxylové kyseliny procházejí přes slizniční bariéry pomocí speciálních přenašečů. Příkladem takto procházejících monokarboxylových kyselin je kyselina salicylová a kyselina nikotinová.¹³

3.6 Lékové formy pro transmukozální podání

Do těchto lékových forem jsou řazeny tablety, pastilky, spreje, ústní vody, gely, krémy, masti, pasty, roztoky, suspenze, mikročástice a nanočástice, náplasti, stripy, filmy a oplatky.¹⁴

3.6.1 Technologie orálních stripů

Orální stripy jsou považovány za poměrně mladou a progresivně se vyvíjející lékovou formu. Jedná se o tenké pásky či proužky s obsahem účinné látky. Obecně lze říci, že se vyrábějí z hydrofilních polymerů, které se rozpouštějí v dutině ústní. Do stripů může být inkorporována vysoká dávka léčiva, až několik miligramů.

Polymery jsou používány buď samostatně, nebo v kombinaci, aby se dosáhlo žádaných vlastností. Polymery by měly být nedráždivé, bez nečistot, mít dobré smykové a tahové vlastnosti, měly by mít dobrou smáčivost, snadnou dostupnost a ekonomickou

přijatelnost. Takové vlastnosti splňují tyto polymery: polykarbofily, deriváty celulosy (hydroxypropylmethylcelulosa, karboxymethylcelulosa, hydroxyethylcelulosa), deriváty kyseliny polyakrylové, kyselina hyaluronová, xanthan, karubin, karagen, sodná sůl alginové kyseliny, chitosan, polyethylenoxidy, polyorthoestery, polyhydroxybutyráty, polykyanoakryláty, polyvinylalkoholy a další. Do poměrně nové generace patří thiolové polymery, které mají volné thiolové skupiny. Vytvářejí tak disulfidické vazby s cysteiny v glykoproteinech hlenu.

Stripy můžeme rozdělit do tří odlišných druhů. Typ první, stripy tvořené rozpustnou matricí, se rozpadají a uvolňují účinnou látku v ústech. Tyto stripy obsahují mukoadhezivní vrstvu, která je buď součástí matrice, či je na matrici připevněna. Léčivo může být po delší dobu uvolňováno.

Stripy s nerozpustnou krycí vrstvou se hojně používají, je-li záměrem systémové podání. Nerozpustná krycí vrstva slouží jako bariéra proti vymývacímu efektu slin a poskytuje tak ochranu léčivu. Po určité době je zapotřebí, aby si pacient tuto nerozpustnou podložku z úst vyjmul.

Stripy s rozpustnou krycí vrstvou poskytují sice kratší dobu ochrany bariéru léčivu, avšak nemusí být následně odstraňovány z úst. Celé se v ústech rozplynou.

V technologii stripů jsou dále používána změkčovadla, která zaručují danou pružnost a snižují křehkost. Mezi jejich stěžejní zástupce patří glycerol, propylenglykol, deriváty kyseliny itálové nebo citronové.

Do stripu lze běžně inkorporovat 5 až 30 % API. Léčiva rozpustná ve vodě jsou do stripu zabudována v rozpuštěné formě. Léčiva opačné polarity, hydrofobní, jsou ve stripu jemně dispergována. Mikronizovaná forma API je pro výrobu stripů nejvhodnější. Struktura filmu tak je jednodušší a rozpouštěcí profil léčiva je výhodnější, rychlejší.

Stripy složené z rozpustné matrice často obsahují také sladidla. Je to z důvodu kompletního rozpadu a rozpuštění této lékové formy v ústech. Zástupci sladidel jsou sacharóza, dextróza, fruktóza, glukóza, sorbitol, manitol, maltitol, isomalt. V případě diabetu jsou používána sladidla umělá: sacharin, aspartam, cyklamát, sukralosa, neotam. Kyselina citrónová, jablečná, vinná, askorbová stimulují slinění. Jsou používány v případě potřeby rychlého rozpuštění stripu v ústech a uvolnění API.

Při výrobě orálních stripů se také často používají aromatické látky (mátový olej, skořicový olej, ovocné příchutě), barviva (titaničitý pigment), stabilizační a zahušťovací složky (xanthan).

První metodou výroby stripů je „protlačování taveniny“. API a všechny ostatní složky jsou v suchém stavu promíseny a zahřívány. Jakmile získáme horkou taveninu,

protlačujeme ji matricí. Následuje chlazení a řezání na stejně velké kusy. Tato metoda je naprosto nevhodná pro API termolabilní povahy. Druhá metoda je „lití“. API a pomocné látky jsou smíchány ve vhodném rozpouštědle. Následuje odstranění vzduchových bublin, odlévání směsi do válečků a sušení, čímž dochází k odstranění rozpouštědla.¹²

3.6.2 Mukoadhezivní stripy obsahující sumatriptan sukcinát

Byla provedena studie zkoumající závislost mezi složením a vlastnostmi bukalních mukoadhezivních stripů obsahujících sumatriptan sukcinát. Základní matrici tvořil chitosan. Jednalo se o stripy připravené metodou „lití“. Snahou bylo dosáhnout jednosměrného uvolňování API ze stripu a možnost aplikace hořkého sumatriptanu sukcinátu bez výrazného použití korigencia chuti. Použitý chitosan se vyznačuje hydrofobicitou, tedy nízkou propustností pro vodu, střední flexibilitou a poměrně špatným uvolňováním API. Strip se skládal ze zevní neboli krycí vrstvy a vrstvy mukoadhezivní. Zevní vrstva byla připravena z 500 mg ethylcelulosity a 2% dibutylftalátu v 10 ml acetonu. Následovalo sušení horkým vzduchem. Mukoadhezivní vrstva byla zhotovena z chitosanu rozpuštěného v kyselině mléčné. K tomuto čirému roztoku byla následně přidána želatina, polyvinylpyrrolidon (dále jen PVP K30), glycerin, roztok sacharinu, a nakonec takové množství sumatriptanu sukcinátu, aby na 2 cm x 2 cm bylo 10 mg API. Tento čirý roztok byl nalit na předem připravenou krycí ethylcelulózovou vrstvu a zde ponechán k sušení při 60 °C. Celkem bylo připraveno 9 různých variant s proměnným obsahem chitosanu a PVP K30. Byla sledována závislost mukoadheze, doby retence, bobtnání, rozpustnosti léčiva a jeho uvolňování ze stripu a následná permeace pře sliznici.

Studii se zjistilo, že chitosan je zodpovědný za lepší mukoadhezivní přilnavost k bukalní sliznici. Předpokládá se, že dochází k vytvoření iontové vazby s mucinem. Chitosan je přírodní amin, jehož kladný náboj iontově reaguje s negativním nábojem karboxylových a sulfátových skupin mucinu. Mucin vytváří obdobné vazby se slizničním povrchem. Čím bude vyšší koncentrace chitosanu, tím lze očekávat lepší mukoadhezivní výsledky. PVP K30 má naopak negativní vliv na mukoadhezi. Doba retence byla opět závislá na koncentraci chitosanu. Zjistilo se, že čím bude nižší obsah chitosanu ve stripu, tím bude doba retence kratší. Tento jev je přisuzován želatině a PVP K30, vytvářejících příliš brzo snadno erodovatelný gel. Zvyšující se množství chitosanu erodovatelnost gelu snižuje. Naopak, chceme-li dosáhnout co nejlepšího profilu uvolňování léčiva ze stripu, musíme zvýšit koncentraci PVP K30. Tento hydrofilní polymer velice snadno přijímá vodu, bobtná a dochází k rozpouštění ve vodě velmi dobře rozpustného sumatriptanu

sukcinátu ($\log P = 0,93$) a jeho následné difúzi a permeaci. Navíc PVP K30 vytváří kanály a póry, které prostupují touto lékovou formou, a tak API může snadněji opouštět matici stripu. Chitosan v tomto případě vytváří vysoce hustou gelovou bariéru a přestup léčiva je zkomplikován. Lze tedy říci, že se zvýšenou koncentrací chitosanu se snižuje difúze léčiva z této lékové formy. Byla provedena simulace těchto různě se měnících podmínek pomocí 9 variant zhotovených stripů. Na tomto základě se zjistilo, že nejvýhodnější varianta je tato: strip obsahující 10 mg sumatriptanu sukcinátu, 3,5% m/V (hmotnostně-objemová %) chitosanu, 1% m/V PVP K30, 2% m/V želatiny, 5% (objemových) glycerinu, 0,1% m/V sacharinu a 100 ml 2% roztoku kyseliny mléčné.

U takto zhotovených stripů byly prováděny různé zkušební metody. Definovala se obsahová jednotnost účinné látky ve stripu. Stripy se ponechaly librovat po určitý čas a koncentrace API uvolněná do vody byla stanovena pomocí UV spektrofotometru. Vlnová délka, při které sumatriptan sukcinát nejvíce absorbuje UV záření, je 282 nm. Tato informace byla použita i pro experimentální část této diplomové práce.

Hodnota povrchového pH těchto stripů byla vždy 6 až 7. Nedocházelo tedy k iritaci sliznice. Ani další histopatologické studie těchto stripů neprokázaly negativní výsledky.

Pro permeační studii byla využita Franzova cela. Celý pokus probíhal při 37 °C. Zjišťovala se permeace API přes bukální sliznici prasat. Bylo zapotřebí jemného oddělení povrchového epitelu od spodní pojivové tkáně. Akceptorová část Franzovy cely byla tvořena fosfátovým pufrům pH 7,4, zatímco donorová část obsahovala umělé sliny o pH 6,8. Mezi donorovou a akceptorovou část byla vložena bukální epitelální sliznice a na její povrch umístěn strip. V časových intervalech byly odebírány 2 ml vzorky z akceptorové oblasti. Po každém odběru byl stejný objem pufru doplněn zpět. Permeované množství bylo kvantifikováno pomocí HPLC s UV detektorem (absorbance při 282 nm). Mobilní fáze byla složena z fosfátového pufru pH 3 a methanolu v poměru 80:20. Informace o celé této permeační studii byly aplikovány v pokusech uvedených v experimentální části této diplomové práce.

Stripy byly dále podrobeny zkoušce na bioadhezi, na dobu retence, na in vitro uvolňování API, průměrnou hmotnost a tloušťku stripů a zkoušce na mechanické vlastnosti. Výsledky další studie ukázaly, že ethylcelulosová membrána je naprosto nepropustná pro sumatriptan sukcinát. I po delším časovém úseku byla zjištěna nulová koncentrace API v donorovém úseku Franzových cel.

Pro lepší permeaci skrze epitelální sliznici bylo využito enhanceru dimethylsulfoxidu 3% (DMSO 3%), který byl vybrán za nejvhodnější. Neovlivňoval žádné jiné parametry kromě zvýšení permeace. Nevykazoval žádné iritační ani nekrotické

vlastnosti. DMSO 3% způsobil poruchu a rozrušení paracelulárních spojů a výplní, tím bylo dosaženo lepšího paracelulárního transportu sumatriptanu sukcinátu.⁸

Franzovy cely jsou považovány za důležitý nástroj v transdermálních studiích. Mohou být aplikovány i do pokusů pro transmukozální podání léčiva. Těmto typům testování v uspořádání *in vivo* je obecně přisuzována špatná reprodukovatelnost. Franzovy cely jsou přínosné pro formulaci a vývoj nových lékových forem proto, že díky nim lze provést reprodukovatelný pokus, který *in vitro* věrohodně simuluje podmínky *in vivo*.²⁰

3.7 Sublingvální tablety zolmitriptanu

Zolmitriptan je řazen do druhé generace triptanů. Je indikován, stejně jako sumatriptan sukcinát, na migrénu s aurou či bez aury. Druhou neméně významnou indikací je klusterová bolest hlavy, která se vyznačuje jednostrannou periorbitální bolestí hlavy s velmi silnou intenzitou.²¹

Z důvodu neustálé sekrece slin v ústech by byla tableta složená z konvenčních pomocných látek velice rychle vynesena z podjazykového prostoru a spolknuta. Navíc při postupném rozpadu tablety je účinná látka neustále naředována slinami. Při větším obsahu slin v ústech člověk impulzivně sliny polyká. API obsažená ve spolknutých slinách opět není k dispozici sublingvální membráně. Tento problém je lehce vyřešen, pokud jsou pro formulaci sublingvální tablety použity mukoadhezivní polymery.

Tyto polymery nejenže způsobují přilnavost tablety k podjazykové membráně, navíc kladou odpor vymývacímu efektu slin. Vhodnými mukoadhezivními polymery pro výrobu sublingvální tablety zolmitriptanu je chitosan, hydroxypropylmethylcelulosa a sodná sůl karboxymethylcelulosy. Výhodné je tyto polymery používat v koncentračním rozsahu 0,5 až 5 %. U chitosanu, který byl použit v 5% koncentraci, byly zjištěny nejvýhodnější farmakokinetické podmínky. Je vhodné dodržení 0,5 až 5 % obsahu polymerů, bude-li zvolena koncentrace vyšší, polymery vytvářejí velice viskózní gelovitou bariéru bránící rozpadu tablety a uvolnění API. Dále je výhodné pro formulaci tablety používat laktózu. Laktóza se ve vodě velmi dobře rozpouští, přičemž po ní zůstávají póry, kterými do tablety proudí voda, a tak dochází k rozpadu sublingválního přípravku. Obecně tablety pro sublingvální aplikaci by měly mít vysoký podíl laktózy a nízký podíl mukoadhezivních polymerů. Měly by být zhotovovány přímým lisováním, neboť poté se tableta rozpadá na samotné částičky, které se rozpouští rychleji než granule.²²

3.8 Sumatriptan, látka hořké povahy

Sumatriptan je látka hořké povahy. Klinická studie uvádí, že 24,5 % pacientů užívajících nasální sprej obsahující sumatriptan upozorňuje na špatný chuťový vjem, na hořkost. Lze tedy očekávat chuťové komplikace při formulaci sumatriptanu do sublingvální lékové formy. Navíc je tato léková forma velice blízko chuťových pohárků jazyka. Na důkaz hořkosti sumatriptanu byly použity laboratorní krysy. Ty byly učeny reflexnímu pití vody, v případě že jim byla předložena. Po přidání sumatriptanu do vody byla zaznamenána snížená frekvence lízání této modifikované vody krysami. Některé krysy dokonce od tekutiny odstupovaly. Byla porovnávána expoziční koncentrace sumatriptanu a tomu odpovídající chování krys. Tímto pokusem mohou být dopředu odhadnuté problémy s chuťovým vjemem, které by následně mohly způsobit komerční problémy se sníženou preskripcí léku či s náklady na maskování hořké chuti. Je udávána tzv. IC 50, což je koncentrace API, která způsobuje pokles ve frekvenci lízání vody o 50 %. Leží-li IC 50 v rozsahu terapeutické koncentrace, nastává problém. IC 50 sumatriptanu je 0,75 g/l (0,75 mg/ml). K maskování hořkosti je v těchto případech nejlepší použít korigencia chuti. Technologie obalování, potahování a enkapsulace nejsou vhodné, neboť mohou způsobit časovou prodlevu v uvolňování léčiva. To je striktně bráno za nežádoucí, protože terapie migrény vyžaduje rychlý účinek léčiva.²³

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Použité látky

Acetonitril pro HPLC	Fisher Scientific, Pardubice
Azid sodný (č.)	Chemapol, Praha
Citrátový pufr pH 3,9	Dr. Kulich Pharma, Hradec Králové
Čištěná voda	UK-FAF, Hradec Králové
Dihydrogenfosforečnan amonný	Chemapol, Praha
Fosfátový pufr pH 7,4	Dr. Kulich Pharma, Hradec Králové
Hydroxid sodný	Penta, Praha
Chlorid sodný	Penta, Praha
Kyselina fosforečná 85%	Chemapol, Praha
Kyselina mléčná	Dr. Kulich Pharma, Hradec Králové
Močovina	Penta, Praha
Octan amonný	Chemapol, Praha
Síran sodný (č.)	Chemapol, Praha
Sumatriptan sukcinát	TEVA Pharmaceuticals, Opava
Voda pro HPLC ultračistá	FaF UK, Hradec Králové

Polyvinylalkohol Mh ~72.000	Sigma-Aldrich, Praha
Kyselina polyakrylová Mh ~450,000	Sigma-Aldrich, Praha
Nanovláknenné membrány	
PVA sum-CHI	Elmarco, Liberec
PVA sum-PAA	Elmarco, Liberec
PVA sumNano	Elmarco, Liberec

Všechny suroviny byly podle deklarací výrobců, resp. dodavatelů lékopisné kvality nebo vyšší. Voda pro HPLC byla odebírána z centrální přípravy na FaF UK a nebyla podrobena lékopisným zkouškám.

4.2 Přístroje

Analytické váhy Sartorius 2004 MP	Sartorius, Německo
Analytické váhy Kern 440-33	Kern Sohn, Německo
Vodní lázeň Grant JB5	Grant Instruments, Velká Británie
Elektronická míchačka Variomag	Labortechnik, Německo
Magnetické míchadlo Telesystem	H-P Labortechnik, Německo
Termostat BT50	Labor. přístroje Praha, Česká republika
Digitální pH metr Gryf 209 L	Gryf Havl. Brod, Česká republika
Ultrazvuková lázeň UCE 002RN	Tesla Vráble, Slovensko
Skleněné permeační cely	FaF UK v Hradci Králové

HPLC sestava, Agilent Technologies 1200, USA

Isokratické čerpadlo	Iso Pump G1310A
Autosampler	ALS1329A
UV/VIS detektor	VWD G1414B s proměnnou vlnovou délkou
Kolony	Zorbax Eclipse plus C18, průměr 4,6 mm, délka 250 mm, zrnitost 5 mikronů
Degaser	G1379B
Termostat	TCC G1316A
Software	ChemStation

4.3 Pracovní postupy a metody

4.3.1 Permeace sumatriptanu z umělé sliny

S využitím HPLC stanovení byla zjišťována permeace sumatriptanu z umělé sliny pH 6,8 do akceptorového pufru PB 6,8.

Donorová fáze	10 mg sumatriptanu /1 ml umělé sliny pH 6,8
Akceptorová fáze	fosfátový pufr pH 6,8 (PB 6,8)
Aplikované množství vzorku	1 ml/buňka
Časy odběrů	30min, 1h, 2h, 3h, 4h, 6h, 8h, 24h

Tab.4.1: Základní parametry pokusu (2 .11. 2011)

4.3.1.1 Příprava donorového roztoku sumatriptanu sukcinátu

Bylo odváženo 50 mg sumatriptanu sukcinátu na analytických vahách a rozpuštěno v 5,0 ml umělé sliny pH 6,8.

4.3.1.2 Příprava umělé sliny

Chlorid sodný	4,5 g
Chlorid draselný	0,3 g
Síran sodný	0,3 g
Octan amonný	0,4 g
Močovina	0,2 g
Kyselina mléčná	3,0 g
Čištěná voda	doplnit do 1000,0 ml

Tab. 4.2: Složení umělé sliny⁸

Pomocí 1 M vodného roztoku hydroxidu sodného bylo pH umělé sliny upraveno na 6,8.

4.3.1.3 Příprava sublingvální membrány

Pracovali jsme s jazyky prasete domácího (*Sus Scrofa*, var. *Domestica*), které byly na fakultu dodávány z místních jatek. Z jazyka byla pomocí skalpelu pečlivě odstraněna veškerá svalová hmota. Preparace vyžaduje velmi jemné a šetrné zacházení se skalpelem, aby nedošlo k proříznutí, a tím k narušení celistvosti sublingvální membrány. Získané vypreparované vzorky membrány byly ponořeny do fosfátového pufru pH 7,4 s přídavkem azidu sodného (0,2 g/l) a umístěny do chladničky, a takto při cca 6 °C připraveny k následujícímu použití.

4.3.1.4 Provedení permeace

Z vypreparované prasečí membrány byly postupně odstříhnuty vzorky cca 2 cm x 2 cm a napnuty mezi dvě destičky modifikované Franzovy cely (komůrky). Oblast pro vlastní permeaci je tvořena dvěma kruhovými výřezy v destičkách a činila 2 cm².

Postupně bylo tímto způsobem zkompletováno 5 permeačních cel s napnutými sublingválními membránami. Do každé z cel bylo vloženo elektromagnetické míchadlo a pomocí injekční stříkačky byla každá cela naplněna přibližně 20 ml akceptorové fáze, v tomto případě fosfátovým pufrem pH 6,8, a ihned umístěna na vodní lázeň (Grant JB5) s nastavenou teplotu $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

V odměrné baňce na 10 ml byl připraven donorový roztok sumatriptanu sukcinátu 10 mg/1 ml v umělé slině pH 6,8. Z něj byl pomocí mikropipety odebírán 1 ml kapalného vzorku a nanášen na jednotlivé vzorky sublingvální membrány a zaznamenán čas nula permeačního pokusu. Po určitých časových intervalech byly dále z akceptorové oblasti permeační cely odebírány vzorky 0,6 ml akceptorového média a tyto vzorky byly vstříkovány do vialek určených pro HPLC pokusy. Po každém odběru vzorku akceptorové fáze následovalo doplnění odebraného množství, tedy doplnění 0,6 ml

fosfátového pufru 6,8 do každé z cel, pro dorovnání objemu na původní úroveň.

Časové intervaly odběrů pro HPLC stanovení sumatriptanu byly 30 minut, 1, 2, 3, 4, 6, 8 a 24 hodin od nástřiku donoru na sublingvální membránu.

K HPLC stanovení byla využita předem zjištěná softwarem ChemStation vygenerovaná kalibrační rovnice přímky.

4.3.2 Permeace sumatriptanu z pufrů PB 7,4 a CB 3,9 a nanovlákných PVA membrán

Byla zjišťována permeace sumatriptanu sukcinátu ze vzorků ve formě roztoků o koncentraci 30 mg/1 ml fosfátového pufru pH 7,4 (PB 7,4), citrátového pufru (CB 3,9) a ve formě nanovlákných membrán do akceptorové fáze PB 7,4.

Vzorek č. 1 až 4	sumatriptan sukcinát 30 mg/1 ml (PB 7,4)
Vzorek č. 5 až 8	sumatriptan sukcinát 30 mg/1 ml (CB 3,9)
Vzorek č. 9 až 12	PVA nanovlákná membrána s 5 % sumatriptanu
Akceptorová fáze	fosfátový pufr pH 7,4
Časy odběrů	15 minut, 30min, 1h, 2h, 4h, 6h, 8h
Množství donoru na buňku	1 ml, resp. 3-vrstevná membrána

Tab. 4.3: Základní informace k pokusu (26. 11. 2011)

4.3.2.1 Příprava donorových vzorků

Bylo odváženo 150 mg sumatriptanu sukcinátu a rozpuštěno v 5 ml fosfátového pufru pH 7,4. Následně bylo odváženo 150 mg sumatriptanu sukcinátu a rozpuštěno v 5 ml citrátového pufru pH 3,9.

Hodnocená membrána PVA obsahovala dle deklarace výrobce 5 % sumatriptanu sukcinátu. Pro permeační pokus z ní byly odstříhnuty vzorky o velikosti 4 cm².

4.3.2.2 Provedení permeace

Analogicky jako v předchozím případě (viz odst. 4.3.1.4) bylo připraveno 12 permeačních cel se sublingválními membránami. Akceptorovou fází byl v tomto případě fosfátový pufr pH 7,4. Do kádinek na 5 ml byly přeneseny předem připravené roztoky sumatriptanu sukcinátu o koncentraci 30 mg/1 ml ve fosfátovém pufru pH 7,4 a o koncentraci 30 mg/1 ml v citrátovém pufru pH 3,9 a pomocí mikropipety vstřikovány po 1 ml na celkem 8 vzorků sublingválních membrán. Do 4 permeačních cel byly položeny odstřížené kusy (cca 4 cm²) PVA nanovlákných membrán obsahujících sumatriptan.

Časové intervaly odběrů byly 15 minut, 30 minut, 1 hodina, 2 hodiny, 4 hodiny, 6 hodin a 8 hodin od umístění donoru na sublingvální membránu.

Ke HPLC stanovení byla použita předem známá kalibrační rovnice.

4.3.3 Permeace sumatriptanu z litých PVA a PAA membrán a PB 7,4

Byla zjišťována permeace sumatriptanu sukcinátu z donoru ve formě roztoku o koncentraci 30 mg/0,5 ml PB 7,4 a permeace donoru ve formě litých membrán PVA či PAA s 10% obsahem sumatriptanu sukcinátu do akceptorového fosforečnanového pufru o pH 7,4 (PB 7,4).

Vzorek 1 až 3	litá membrána PVA s 10% obsahem sumatriptanu sukcinátu
Vzorek 4 až 7	litá membrána PAA s 10% obsahem sumatriptanu sukcinátu
Vzorek 8 až 11	sumatriptan sukcinát 30 mg/0,5 ml PB 7,4
Časy měření	15min, 30min, 1h, 2h, 4h, 6h, 8h, 24h

Tab. 4.4: Základní informace k pokusu (12. 4. 2011)

4.3.3.1 Příprava roztoku sumatriptanu sukcinátu

Bylo odváženo 150 mg sumatriptanu sukcinátu na analytických vahách a rozpuštěno v 2,5 ml fosfátového pufru pH 7,4.

4.3.3.2 Příprava litých membrán z PVA a PAA se sumatriptanem sukcinátem

Lité membrány z PVA se sumatriptanem sukcinátem byly zhotoveny rozpuštěním 495 mg polyvinylalkoholu v 5,0 ml vody za neustálého míchání pomocí magnetického míchadla a elektromagnetické míchačky. Ihned po vzniku viskózního roztoku byla přidána substance sumatriptanu sukcinátu v množství 55 mg. Vytvořená homogenní směs byla rozprostřena na antiadhezivní fólii z hliníku a takto ponechána do té doby, než se použité rozpouštědlo odpařilo (24 hodin). Poté byla membrána vložena na dalších 24 hodin do exsikátoru se silikagelem.

Litá membrána z PVA	495 mg polyvinylalkoholu + 55 mg sumatriptanu sukcinátu
Litá membrána z PAA	255 mg kyseliny polyakrylové + 25 mg sumatriptanu sukcinátu

Tab. 4.5: Složení litých membrán (7. 3. 2011)

Lité membrány z PAA se sumatriptanem sukcinátem byly zhotoveny rozpuštěním 225 mg kyseliny polyakrylové v 5 ml vody za neustálého míchání pomocí magnetického míchadla a elektromagnetické míchačky. Ihned po vzniku viskózního roztoku byla

přidána substance sumatriptanu sukcinátu v množství 25 mg. Vytvořená homogenní směs byla rozprostřena na antiadhezivní fólii z hliníku a ponechána takto do té doby, než se použité rozpouštědlo odpařilo (24 hodin). Poté byly membrány vloženy do exsikátoru na dalších 24 hodin.

Z takto připravených litých membrán obsahujících sumatriptan sukcinát v koncentraci 10% byly odstříhnuty kusy o velikosti 4 cm² (4 kusy z PVA lité membrány a 3 kusy z PAA lité membrány).

4.3.3.3 Provedení permeace

Postupně bylo připraveno 11 permeačních cel se sublingválními membránami. Další detaily postupu byly stejné jako v předchozích případech (viz odst. 4.3.2.2). Do kádinky na 5 ml byl přenesen předem připravený roztok sumatriptanu sukcinátu 30 mg/0,5 ml fosfátového pufru pH 7,4, který byl pomocí mikropipety odebírán a vstřikován po 0,5 ml na 4 jednotlivé sublingvální membrány. Na dalších 4 pozicích byly kladeny nastříhané kusy (4 cm²) lité membrány z PVA obsahující sumatriptan sukcinát v koncentraci 10%. V posledních 3 permeačních celách byly obdobně kladeny vzorky lité membrány z PAA obsahující sumatriptan sukcinát (taktéž v koncentraci 10 %). Časové intervaly pro odběry akceptorové fáze byly 15 minut, 30 minut, 1 hodina, 2 hodiny, 4 hodiny, 6 hodin, 8 hodin a 24 hodin od nástřiku donoru na sublingvální membránu.

4.3.4 Liberace sumatriptanu z litých membrán PVA a PAA

Donorové vzorky	sumatriptan sukcinát v PVA nebo v PAA (10 %)
Akceptorová fáze	fosfátový pufr pH 7,4 izotonizovaný pro HPLC
Časy odběru vzorků k měření	5 min, 10 min, 15 min, 30min, 1h, 2h, 4 h, 24h
Množství akceptorové fáze PB 7,4	20 ml/liberační vialku

Tab. 4.6: Základní informace k liberačnímu pokusu (15. 3. 2011)

4.3.4.1 Provedení liberačního pokusu

Z připravené vysušené membrány byly odstříhnuty čtverce přibližně 1 cm x 1 cm. Každý z těchto čtverců byl zvlášť zvážěn na analytických vahách Satorius 2004MP a umístěn do liberačních vialek k liberačním pokusům. Ke každé vialce bylo pomocí injekční stříkačky přidáno 20,0 ml fosfátového pufru pH 7,4 izotonizovaného pro HPLC bez přídavku azidu sodného. Do každé vialky bylo umístěno magnetické míchadlo a takto připravené vialky byly vloženy na vodní lázeň s nastavenou konstantní teplotou 37°C. V určitých časových intervalech byly odebírány vzorky 0,6 ml do vialek určených pro HPLC stanovení. Ke

každé liberační vialce bylo po každém odběru přidáno 0,6 ml fosfátového pufru pH 7,4 izotonizovaného pro HPLC pro dorovnání objemu do 20,0 ml. Pomocí HPLC byla zjišťována koncentrace sumatriptanu sukcinátu v akceptoru PB 7,4 izotonizovaného pro HPLC. Použita byla předem připravená kalibrační křivka sumatriptanu sukcinátu. Jednotlivé koncentrační hodnoty byly převedeny na liberační průběhy v čase pomocí přepočteního vzorce zahrnujícího i vztah ke konkrétní hmotnosti každého čtverce membrány. Výsledky byly také u každé membrány přepočteny na procentuální podíl uvolněného sumatriptanu sukcinátu.

4.3.5 Nanovlákné membrány PVA, PVA-PAA, PVA-Chi se sumatriptanem

K liberačním i permeačním pokusům byly použity nanovlákné membrány s označením PVAsum, PVAsum-PAA, PVAsum-Chi. Jejich výroba probíhala v zásadě takto: polyvinylalkohol byl rozpuštěn ve vodě na soustavu s obsahem 11 % polymeru. Do vzniklého viskózního roztoku byl přidán sumatriptan sukcinát v takovém množství, aby jeho koncentrace odpovídala 5 % hmotnosti polymeru. Tato směs byla nanášena elektrospiningem na podklad a v případě PVAsum-PAA a PVAsum-Chi membrán převrstvena kyselinou polyakrylovou či chitosanem. Následovalo sušení pod vakuem a zesíťování. Takto vyrobené membrány byly dodány firmou Elmarco, Liberec.

4.3.6 Provedení liberace nanovlákných membrán

Z nanovlákných membrán byly odstříhány čtverce přibližně 1 cm x 1 cm. Každý z těchto čtverců byl zvlášť zvážěn na analytických vahách Satorius 2004MP a umístěn do liberačních vialek k liberačním pokusům. Ke každé vialce bylo pomocí injekční stříkačky přidáno 20,0 ml fosfátového pufru pH 7,4 izotonizovaného pro HPLC bez přídavku azidu sodného. Další postup byl stejný, jak je uvedeno v odstavci 4.3.4.

Vzorek 1 a 2	PVAsum nanovlákná membrána 5%
Vzorek 3 a 4	PVAsum-PAA nanovlákná membrána 5%
Vzorek 5 a 6	PVAsum-Chi nanovlákná membrána 5%
Akceptorová fáze	20 ml PB 7,4 izotonizovaného pro HPLC
Čas měření	24 h

Tab. 4.7 : Základní informace k pokusu (4. 11. 2011)

4.4 HPLC stanovení sumatriptanu sukcinátu

Informace o podmínkách pro HPLC stanovení sumatriptanu sukcinátu a složení mobilní fáze byly čerpány ze dvou specializovaných článků.^{24,25} Konkrétní použité podmínky odpovídaly potřebě rychlého sériového stanovení sumatriptanu.

4.4.1 Příprava mobilní fáze

Příprava pufru pro mobilní fázi

5,7515 g dihydrogenfosforečnanu amonného bylo rozpuštěno v 1 litru ultračisté vody pro HPLC. Pomocí kyseliny fosforečné 85% zředěné na 1 mol/l (1 ml této kyseliny a 10 ml ultračisté vody pro HPLC) bylo upraveno pH pufru na hodnotu 3,0.

Mobilní fáze byla připravena smícháním dvou kapalin:

acetonitril16 dílů obj.

0,05 M dihydrogenfosforečnan amonný pH 384 dílů obj.

Poté bylo 500 ml uvedené směsi ponecháno v baňce na ultrazvukové vodní lázni pro odstranění případných bublinek plynu.

Příprava odměrného roztoku sumatriptanu sukcinátu pro stanovení HPLC

Přepočteme-li 145 $\mu\text{mol/l}$ (při této koncentraci je ještě lineární odezva detektoru)²⁵ na mg/100 ml, vyjde nám koncentrace sumatriptanu sukcinátu 6 mg/100 ml. Do odměrné baňky na 100 ml bylo tedy naváženo 6 mg sumatriptanu sukcinátu a doplněno zvolenými médii po značku:

médium č.1 fosfátový pufr pH 7,4

médium č.2 voda pro HPLC ultračistá

médium č.3 umělá slina pH 6,8

4.4.2 Chromatografické podmínky

Kolona: Zorbax Eclipse plus C18, průměr 4,6 mm, délka 250 mm, zrnitost 5 mikronů

Mobilní fáze: Acetonitril: 0,05 M dihydrogenfosforečnan amonný pH 3 (16:84)

Průtok: 5 ml/min

Teplota kolony: 30 °C

Nanáška vzorku: 25 mikrolitrů

4.4.3 Zpracování výsledků

Jednotlivá permeační data získaná z HPLC sestavy Agilent Technologies 1200 byla vyjádřena v mg/100 ml. Tyto výsledky byly vloženy do speciálních výpočteních tabulek „Zpracování výsledků”.²⁶ Přenos výsledků z HPLC softwaru do excelových tabulek zajišťoval Mgr. Petr Vrbata. Tabulky výpočetní šablony umožňovaly zaznamenat do nich všechny potřebné údaje z permeačních pokusů a vygenerovat protokoly tak, jak jsou

prezentovány v části **5. Dokumentace**.

Výsledky permeačních pokusů vyjádřené formou fluxu J sumatriptanu jsou prezentovány v části **6. Výsledky a diskuse**. Jsou v nich zahrnuty výsledky všech dílčích pokusů. Pro vyčíslení průměrných hodnot byly ovšem vzaty pouze takové údaje fluxů, které podle charakteru časového průběhu koncentračních dat nebyly poznamenány nejistotou experimentální chyby.

5 DOKUMENTACE

Protokol 1

Sumatriptan sukcinát- permeace přes prasečí sublingvální membránu 2.11.2011

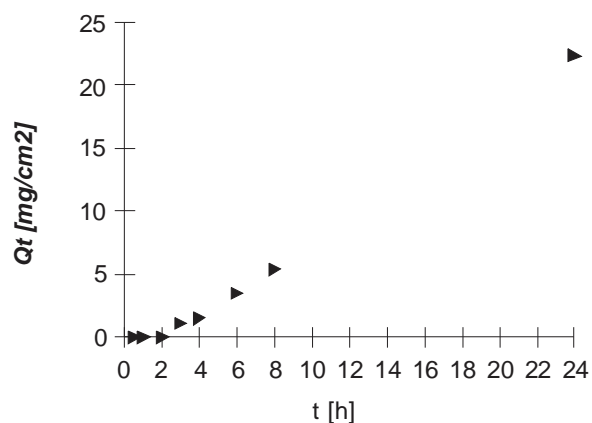
V_o	[ml]		$V_o = 19,4$
t	[h]		
C_{nk}	[mg/100ml]		subling. nemraz.
ΔV_{dop}	[ml]		
C_k	[mg/100ml]	Donor:	Sumatr.sukcinát 10mg/1ml
Q_t	[μ g] ve V_o		um.sliny 6,8
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1cm^2$	Akceptor:	PB6,8

Plocha: 2 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0,5		0,6			
1		1,2			
2		1,8			
3	0,011	2,4	0,011	2,2	1,1
4	0,014	3	0,015	2,9	1,5
6	0,033	3,6	0,036	6,9	3,4
8	0,049	4,2	0,055	10,7	5,3
24	0,218	4,8	0,230	44,6	22,3

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,5		-1,2
1		-0,8
2		0,2
3	1,1	1,2
4	1,5	2,2
6	3,4	4,1
8	5,3	6,1
24	22,3	21,8

Parametry lineární regrese	
Počet bodů	n = 8
Flux	J = 0,98
Abs. člen	q = -1,73
Korelační koef.	r = 0,99



Protokol

2

Sumatriptan sukcinát- permeace přes prasečí sublingvální membránu 2.11.2011

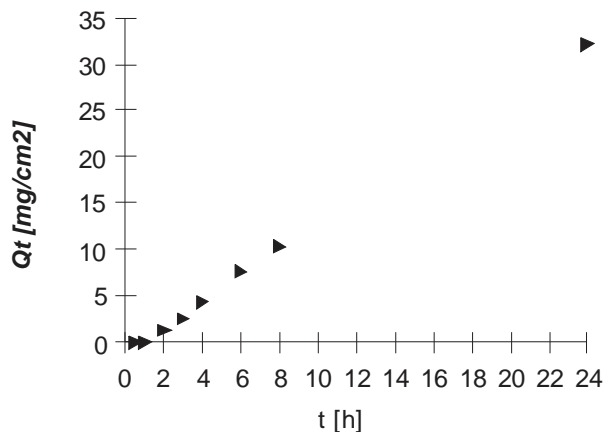
V_o	[ml]		Vo = 19,3
t	[h]		
C_{nk}	[mg/100ml]		subling. nemraz.
ΔV_{dop}	[ml]		
C_k	[mg/100ml]	Donor:	Sumatr.sukcinát 10mg/1ml
Q_t	[μ g] ve V_o		um.sliny 6,8
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1 \text{ cm}^2$	Akceptor:	PB6,8

Plocha: 2 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0,5		0,6			
1		1,2			
2	0,014	1,8	0,014	2,6	1,3
3	0,025	2,4	0,027	5,1	2,6
4	0,042	3	0,045	8,7	4,4
6	0,072	3,6	0,079	15,3	7,7
8	0,092	4,2	0,107	20,7	10,3
24	0,310	4,8	0,333	64,3	32,2

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,5		
1		
2	1,3	1,3
3	2,6	2,6
4	4,4	4,4
6	7,7	7,7
8	10,3	10,3
24	32,2	32,2

Parametry lineární regrese	
Počet bodů	n = 8
Flux	J = 1,39
Abs. člen	q = -1,15
Korelační koef.	r = 1



Protokol 3

Sumatriptan sukcinát- permeace přes prasečí sublingvální membránu 2.11.2011

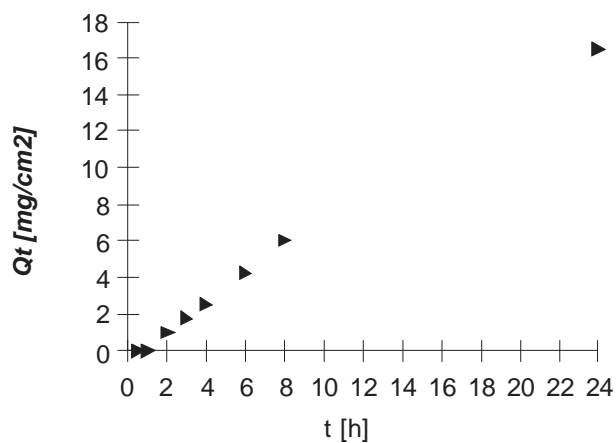
V_o	[ml]		Vo = 17,6
t	[h]		
C_{nk}	[mg/100ml]		subling. nemraz.
ΔV_{dop}	[ml]		
C_k	[mg/100ml]	Donor:	Sumatr.sukcinát 10mg/1ml
Q_t	[μ g] ve V_o		um.sliny 6,8
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1cm^2$	Akceptor:	PB6,8

Plocha: 2 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0,5		0,6			
1		1,2			
2	0,011	1,8	0,011	2,0	1,0
3	0,019	2,4	0,020	3,6	1,8
4	0,026	3	0,029	5,0	2,5
6	0,043	3,6	0,048	8,5	4,2
8	0,059	4,2	0,069	12,1	6,0
24	0,171	4,8	0,187	33,0	16,5

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,5		0,1
1		0,4
2	1,0	1,1
3	1,8	1,8
4	2,5	2,5
6	4,2	4,0
8	6,0	5,4
24	16,5	16,7

Parametry lineární regrese	
Počet bodů	n = 8
Flux	J = 0,71
Abs. člen	q = -0,29
Korelační koef.	r = 1



Sumatriptan sukcinát- permeace přes prasečí sublingvální membránu 2.11.2011

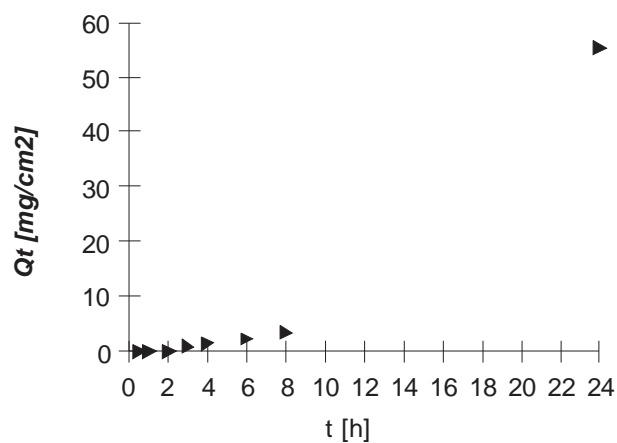
V_o	[ml]		$V_o = 17,8$
t	[h]		
C_{nk}	[mg/100ml]		subling. nemraz.
ΔV_{dop}	[ml]		
C_k	[mg/100ml]	Donor:	Sumatr.sukcinát 10mg/1ml
Q_t	[μ g] ve V_o		um.sliny 6,8
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1cm^2$	Akceptor:	PB6,8

Plocha: 2 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0,5		0,6			
1		1,2			
2		1,8			
3	0,010	2,4	0,010	1,8	0,9
4	0,014	3	0,015	2,7	1,4
6	0,023	3,6	0,026	4,6	2,3
8	0,033	4,2	0,038	6,8	3,4
24	0,613	4,8	0,622	110,7	55,4

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,5		-5,5
1		-4,3
2		-1,9
3	0,9	0,5
4	1,4	2,9
6	2,3	7,8
8	3,4	12,6
24	55,4	51,2

Parametry lineární regrese	
Počet bodů	n = 8
Flux	J = 2,41
Abs. člen	q = -6,7
Korelační koef.	r = 0,96



Sumatriptan sukcinát- permeace přes prasečí sublingvální membránu 2.11.2011

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1cm^2$

$V_o = 18,2$

subling. nemraz.

Donor: Sumatr.sukcinát 10mg/1ml
um.sliny 6,8

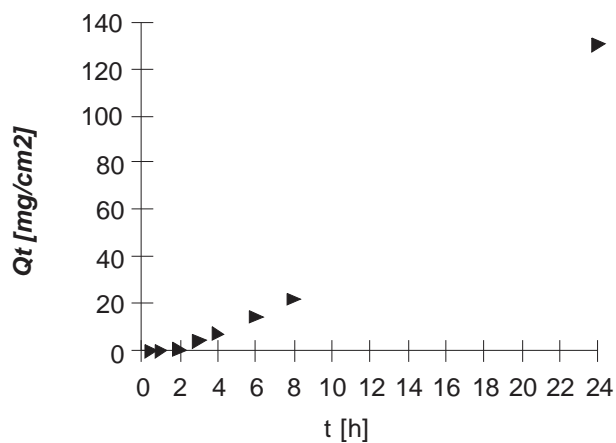
Akceptor: PB6,8

Plocha: 2 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0,5		0,6			
1		1,2			
2	0,006	1,8	0,006	1,1	0,6
3	0,045	2,4	0,046	8,3	4,2
4	0,072	3	0,078	14,2	7,1
6	0,146	3,6	0,159	28,9	14,5
8	0,208	4,2	0,239	43,6	21,8
24	1,377	4,8	1,433	260,7	130,4

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,5		-9,4
1		-6,6
2	0,6	-0,9
3	4,2	4,9
4	7,1	10,6
6	14,5	22,0
8	21,8	33,4
24	130,4	124,6

Parametry lineární regrese	
Počet bodů	n = 8
Flux	J = 5,7
Abs. člen	q = -12,25
Korelační koef.	r = 0,99



Protokol 6

Sumatriptan sukcinát- permeace přes prasečí sublingvální membránu 26.11.2011

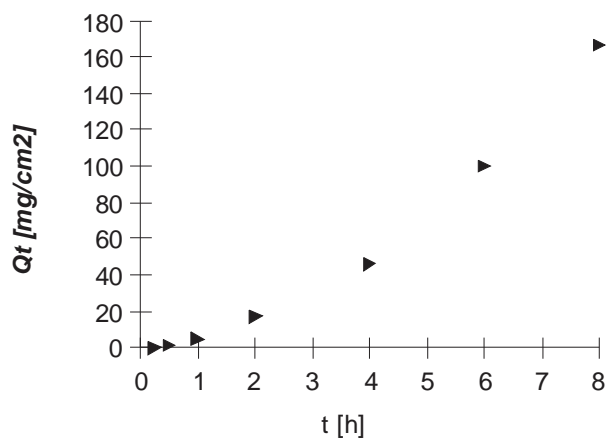
V_o	[ml]		Vo = 18,6
t	[h]		
C_{nk}	[mg/100ml]		subling. nemraz.
ΔV_{dop}	[ml]		
C_k	[mg/100ml]	Donor:	Sumatr.sukcinát 30 mg/1 ml PB7,4
Q_t	[μg] ve V_o		
Q_t	[μg] ve $V_o / 1cm^2$	Akceptor:	PB7,4

Plocha: 2 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0,25		0,6			
0,5	0,015	1,2	0,015	2,8	1,4
1	0,053	1,8	0,054	10,0	5,0
2	0,178	2,4	0,183	34,1	17,0
4	0,471	3	0,495	92,0	46,0
6	0,998	3,6	1,078	200,5	100,2
8	1,583	4,2	1,791	333,2	166,6

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,25		-11,2
0,5	1,4	-6,0
1	5,0	4,4
2	17,0	25,1
4	46,0	66,5
6	100,2	108,0
8	166,6	149,4

Parametry lineární regrese	
Počet bodů	n = 7
Flux	J = 20,72
Abs. člen	q = -16,33
Korelační koef.	r = 0,98



Protokol 7

Sumatriptan sukcinát- permeace přes prasečí sublingvální membránu 26.11.2011

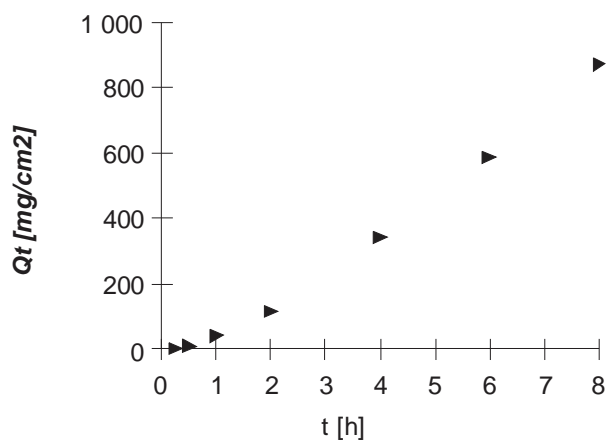
V_o	[ml]		Vo = 18,8
t	[h]		
C_{nk}	[mg/100ml]		subling. nemraz.
ΔV_{dop}	[ml]		
C_k	[mg/100ml]	Donor:	Sumatr.sukcinát 30 mg/1 ml PB7,4
Q_t	[μg] ve V_o		
Q_t	[μg] ve $V_o / 1 \text{ cm}^2$	Akceptor:	PB7,4

Plocha: 2 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0,25	0,016	0,6	0,016	3,1	1,5
0,5	0,092	1,2	0,093	17,4	8,7
1	0,427	1,8	0,433	81,4	40,7
2	1,185	2,4	1,227	230,6	115,3
4	3,480	3	3,637	683,7	341,8
6	5,663	3,6	6,243	1 173,7	586,9
8	8,055	4,2	9,251	1 739,2	869,6

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0,25	1,5	1,5
0,5	8,7	8,7
1	40,7	40,7
2	115,3	115,3
4	341,8	341,8
6	586,9	586,9
8	869,6	869,6

Parametry lineární regrese	
Počet bodů	n = 7
Flux	J = 111,99
Abs. člen	q = -67,3
Korelační koef.	r = 0,99



Protokol 8

Sumatriptan sukcinát- permeace přes prasečí sublingvální membránu 26.11.2011

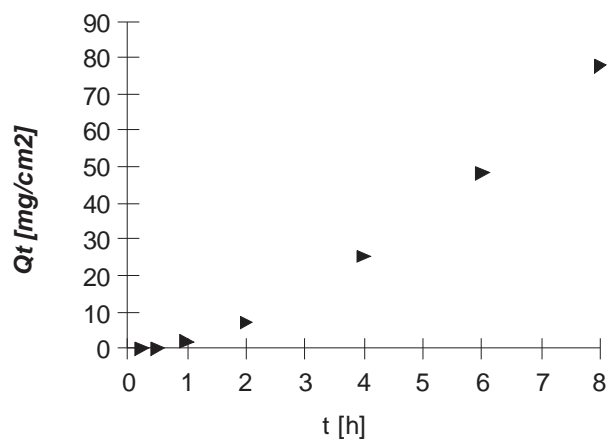
V_o	[ml]		Vo = 18,4
t	[h]		
C_{nk}	[mg/100ml]		subling. nemraz.
ΔV_{dop}	[ml]		
C_k	[mg/100ml]	Donor:	Sumatr.sukcinát 30 mg/1 ml PB7,4
Q_t	[μg] ve V_o		
Q_t	[μg] ve $V_o / 1\text{cm}^2$	Akceptor:	PB7,4

Plocha: 2 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0,25		0,6			
0,5		1,2			
1	0,020	1,8	0,020	3,6	1,8
2	0,076	2,4	0,078	14,3	7,2
4	0,265	3	0,275	50,6	25,3
6	0,479	3,6	0,524	96,4	48,2
8	0,742	4,2	0,844	155,4	77,7

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,25		-5,3
0,5		-2,9
1	1,8	2,1
2	7,2	12,0
4	25,3	31,7
6	48,2	51,4
8	77,7	71,2

Parametry lineární regrese	
Počet bodů	n = 7
Flux	J = 9,87
Abs. člen	q = -7,79
Korelační koef.	r = 0,99



Protokol 9

Sumatriptan sukcinát- permeace přes prasečí sublingvální membránu 26.11.2011

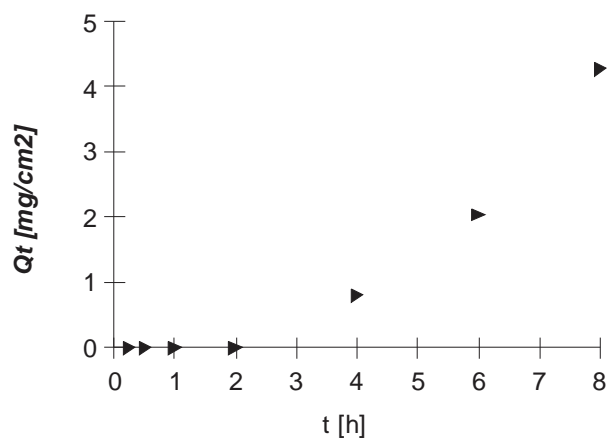
V_o	[ml]		$V_o = 17,6$
t	[h]		
C_{nk}	[mg/100ml]		subling. nemraz.
ΔV_{dop}	[ml]		
C_k	[mg/100ml]	Donor:	Sumatr.sukcinát 30 mg/1 ml PB7,4
Q_t	[μ g] ve V_o		
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$	Akceptor:	PB7,4

Plocha: 2 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0,25		0,6			
0,5		1,2			
1		1,8			
2		2,4			
4	0,009	3	0,009	1,6	0,8
6	0,022	3,6	0,023	4,1	2,0
8	0,044	4,2	0,048	8,5	4,3

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,25		-0,4
0,5		-0,3
1		-0,1
2		0,4
4	0,8	1,5
6	2,0	2,5
8	4,3	3,5

Parametry lineární regrese	
Počet bodů	n = 7
Flux	J = 0,51
Abs. člen	q = -0,57
Korelační koef.	r = 0,94



Protokol 10

Sumatriptan sukcinát- permeace přes prasečí sublingvální membránu 26.11.2011

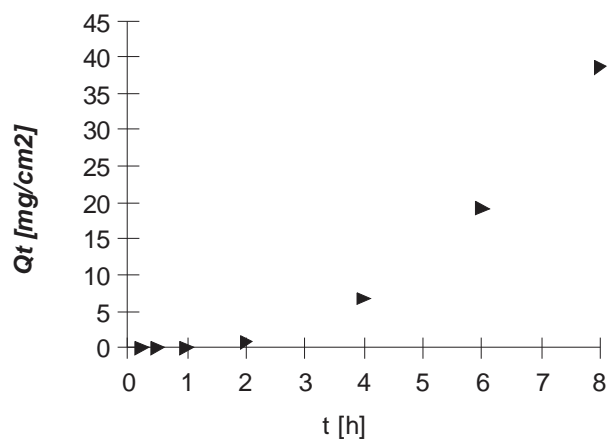
V_o	[ml]		Vo = 17,2
t	[h]		
C_{nk}	[mg/100ml]		subling. nemraz.
ΔV_{dop}	[ml]		
C_k	[mg/100ml]	Donor:	Sumatr.sukcinát 30 mg/1 ml CB3,9
Q_t	[μg] ve V_o		
Q_t	[μg] ve $V_o / 1\text{cm}^2$	Akceptor:	PB7,4

Plocha: 2 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0,25		0,6			
0,5		1,2			
1		1,8			
2	0,009	2,4	0,009	1,5	0,8
4	0,077	3	0,078	13,5	6,7
6	0,210	3,6	0,224	38,5	19,2
8	0,402	4,2	0,449	77,2	38,6

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,25		-3,9
0,5		-2,8
1		-0,5
2	0,8	4,2
4	6,7	13,5
6	19,2	22,8
8	38,6	32,1

Parametry lineární regrese	
Počet bodů	n = 7
Flux	J = 4,65
Abs. člen	q = -5,1
Korelační koef.	r = 0,95



Protokol 11

Sumatriptan sukcinát- permeace přes prasečí sublingvální membránu 26.11.2011

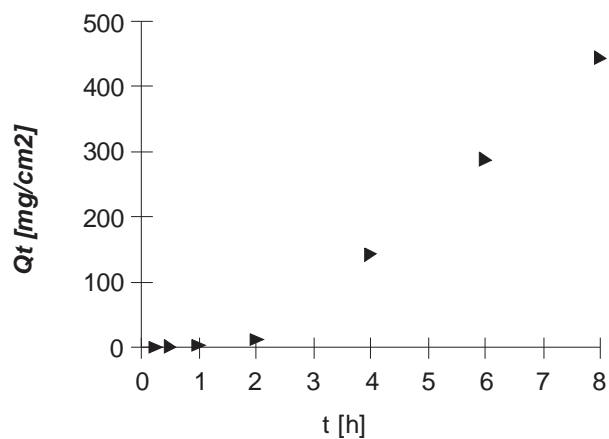
V_o	[ml]		Vo = 19,6
t	[h]		
C_{nk}	[mg/100ml]		subling. nemraz.
ΔV_{dop}	[ml]		
C_k	[mg/100ml]	Donor:	Sumatr.sukcinát 30 mg/1 ml CB3,9
Q_t	[μg] ve V_o		
Q_t	[μg] ve $V_o / 1\text{cm}^2$	Akceptor:	PB7,4

Plocha: 2 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0,25	0,007	0,6	0,007	1,4	0,7
0,5	0,022	1,2	0,022	4,3	2,1
1	0,037	1,8	0,039	7,6	3,8
2	0,121	2,4	0,125	24,4	12,2
4	1,447	3	1,462	286,5	143,3
6	2,719	3,6	2,942	576,7	288,3
8	3,979	4,2	4,520	885,9	442,9

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,25	0,7	-37,2
0,5	2,1	-22,8
1	3,8	6,0
2	12,2	63,7
4	143,3	179,1
6	288,3	294,5
8	442,9	409,9

Parametry lineární regrese	
Počet bodů	n = 7
Flux	J = 57,7
Abs. člen	q = -51,65
Korelační koef.	r = 0,98



Protokol 12

Sumatriptan sukcinát- permeace přes prasečí sublingvální membránu 26.11.2011

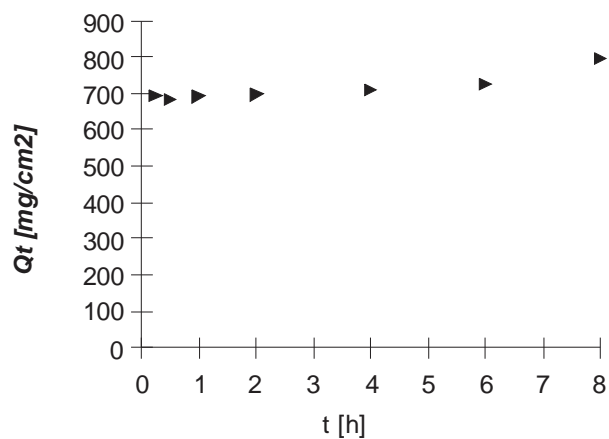
V_o	[ml]		Vo = 18,8
t	[h]		
C_{nk}	[mg/100ml]		subling. nemraz.
ΔV_{dop}	[ml]		
C_k	[mg/100ml]	Donor:	Sumatr.sukcinát 30 mg/1 ml CB3,9
Q_t	[μg] ve V_o		
Q_t	[μg] ve $V_o / 1\text{cm}^2$	Akceptor:	PB7,4

Plocha: 2 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0,25	7,382	0,6	7,382	1 387,8	693,9
0,5	7,041	1,2	7,276	1 368,0	684,0
1	6,894	1,8	7,358	1 383,3	691,7
2	6,709	2,4	7,413	1 393,7	696,8
4	6,600	3	7,546	1 418,6	709,3
6	6,511	3,6	7,715	1 450,4	725,2
8	6,990	4,2	8,468	1 591,9	795,9

t	Q_t (exp)	Q_t (teor)
0,25	693,9	680,3
0,5	684,0	683,2
1	691,7	689,1
2	696,8	700,8
4	709,3	724,3
6	725,2	747,8
8	795,9	771,3

Parametry lineární regrese	
Počet bodů	n = 7
Flux	J = 11,74
Abs. člen	q = 677,36
Korelační koef.	r = 0,91



Protokol 13

Sumatriptan sukcinát- permeace přes prasečí sublingvální membránu 26.11.2011

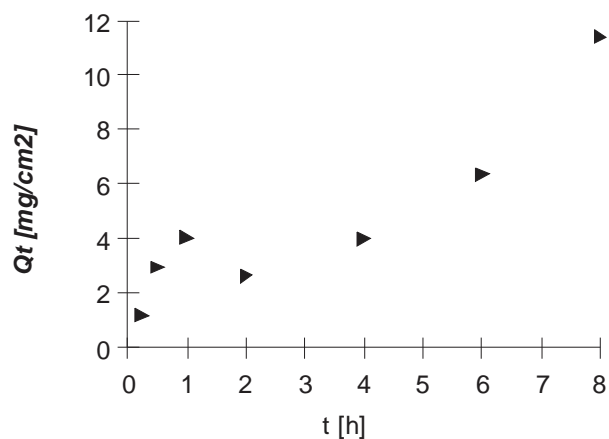
V_o	[ml]		Vo = 19,5
t	[h]		
C_{nk}	[mg/100ml]		subling. nemraz.
ΔV_{dop}	[ml]		
C_k	[mg/100ml]	Donor:	Sumatr.sukcinát 30 mg/1 ml CB3,9
Q_t	[μ g] ve V_o		
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$	Akceptor:	PB7,4

Plocha: 2 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0,25	0,012	0,6	0,012	2,4	1,2
0,5	0,030	1,2	0,030	5,9	2,9
1	0,040	1,8	0,042	8,1	4,1
2	0,023	2,4	0,027	5,3	2,6
4	0,038	3	0,041	8,0	4,0
6	0,059	3,6	0,065	12,7	6,4
8	0,105	4,2	0,117	22,8	11,4

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,25	1,2	1,7
0,5	2,9	2,0
1	4,1	2,5
2	2,6	3,5
4	4,0	5,6
6	6,4	7,6
8	11,4	9,7

Parametry lineární regrese	
Počet bodů	n = 7
Flux	J = 1,03
Abs. člen	q = 1,46
Korelační koef.	r = 0,91



Protokol 14

Sumatriptan sukcinát- permeace přes prasečí sublingvální membránu 26.11.2011

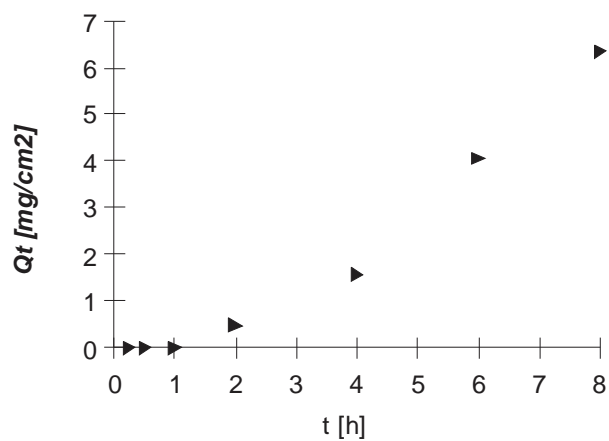
V_o	[ml]		Vo = 16,8
t	[h]		
C_{nk}	[mg/100ml]		subling. nemraz.
ΔV_{dop}	[ml]		
C_k	[mg/100ml]	Donor:	PVAsumNano
Q_t	[μg] ve V_o		
Q_t	[μg] ve $V_o / 1\text{cm}^2$	Akceptor:	PB7,4

Plocha: 2 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0,25		0,6			
0,5		1,2			
1		1,8			
2	0,006	2,4	0,006	1,0	0,5
4	0,018	3	0,019	3,1	1,6
6	0,045	3,6	0,048	8,1	4,1
8	0,065	4,2	0,076	12,7	6,3

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,25		-0,5
0,5		-0,3
1		0,1
2	0,5	0,9
4	1,6	2,5
6	4,1	4,1
8	6,3	5,8

Parametry lineární regrese	
Počet bodů	n = 7
Flux	J = 0,81
Abs. člen	q = -0,74
Korelační koef.	r = 0,98



Protokol 15

Sumatriptan sukcinát- permeace přes prasečí sublingvální membránu 26.11.2011

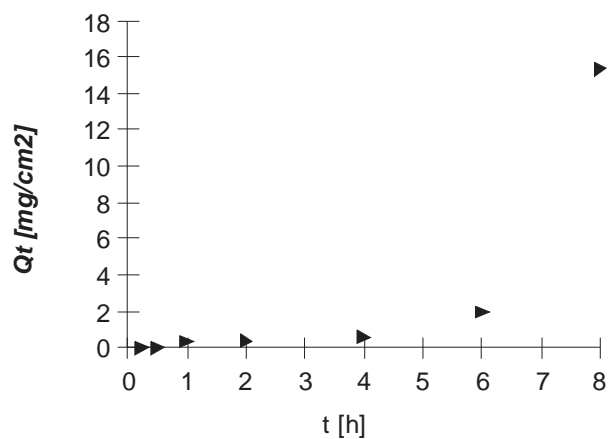
V_o	[ml]		Vo = 18
t	[h]		
C_{nk}	[mg/100ml]		subling. nemraz.
ΔV_{dop}	[ml]		
C_k	[mg/100ml]	Donor:	PVAsumNano
Q_t	[μg] ve V_o		
Q_t	[μg] ve $V_o / 1cm^2$	Akceptor:	PB7,4

Plocha: 2 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0,25		0,6			
0,5		1,2			
1	0,004	1,8	0,004	0,7	0,4
2	0,004	2,4	0,004	0,8	0,4
4	0,006	3	0,007	1,2	0,6
6	0,021	3,6	0,022	3,9	2,0
8	0,166	4,2	0,170	30,7	15,3

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,25		-1,6
0,5		-1,2
1	0,4	-0,5
2	0,4	1,0
4	0,6	4,0
6	2,0	7,0
8	15,3	10,0

Parametry lineární regrese	
Počet bodů	n = 7
Flux	J = 1,49
Abs. člen	q = -1,97
Korelační koef.	r = 0,79



Protokol 16

Sumatriptan sukcinát- permeace přes prasečí sublingvální membránu 26.11.2011

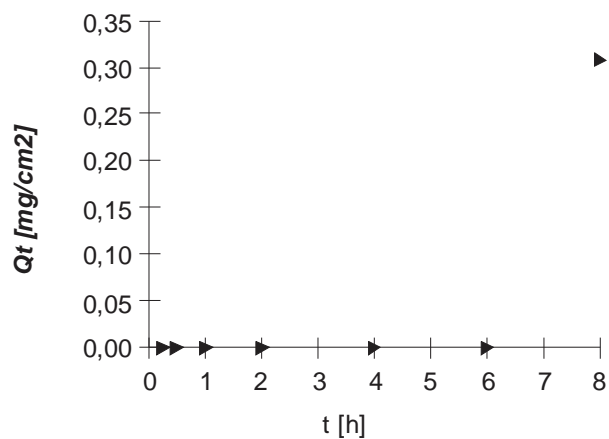
V_o	[ml]		Vo = 17,2
t	[h]		
C_{nk}	[mg/100ml]		subling. nemraz.
ΔV_{dop}	[ml]		
C_k	[mg/100ml]	Donor:	PVAsumNano
Q_t	[μg] ve V_o		
Q_t	[μg] ve $V_o / 1\text{cm}^2$	Akceptor:	PB7,4

Plocha: 2 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0,25		0,6			
0,5		1,2			
1		1,8			
2		2,4			
4		3			
6		3,6			
8	0,004	4,2	0,004	0,6	0,3

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,25		0,0
0,5		0,0
1		0,0
2		0,0
4		0,1
6		0,1
8	0,3	0,2

Parametry lineární regrese	
Počet bodů	n = 7
Flux	J = 0,03
Abs. člen	q = -0,04
Korelační koef.	r = 0,72



Protokol 17

Sumatriptan sukcinát- permeace přes prasečí sublingvální membránu 26.11.2011

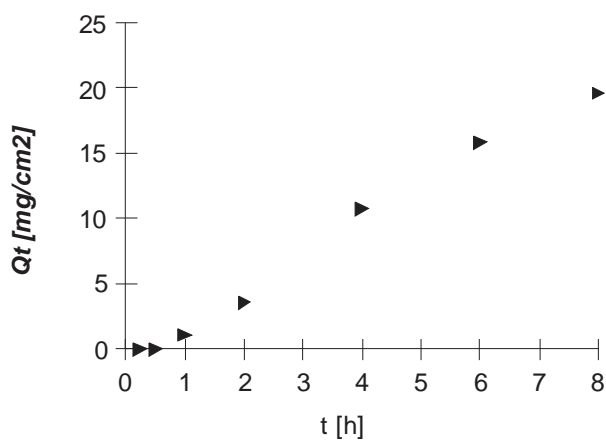
V_o	[ml]		Vo = 19,2
t	[h]		
C_{nk}	[mg/100ml]		subling. nemraz.
ΔV_{dop}	[ml]		
C_k	[mg/100ml]	Donor:	PVAsumNano
Q_t	[μg] ve V_o		
Q_t	[μg] ve $V_o / 1cm^2$	Akceptor:	PB7,4

Plocha: 2 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0,25		0,6			
0,5		1,2			
1	0,011	1,8	0,011	2,1	1,1
2	0,036	2,4	0,037	7,1	3,6
4	0,107	3	0,112	21,4	10,7
6	0,147	3,6	0,164	31,6	15,8
8	0,173	4,2	0,204	39,1	19,6

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,25		-0,5
0,5		0,2
1	1,1	1,6
2	3,6	4,3
4	10,7	9,7
6	15,8	15,0
8	19,6	20,4

Parametry lineární regrese	
Počet bodů	n = 7
Flux	J = 2,69
Abs. člen	q = -1,13
Korelační koef.	r = 1



Sumatriptan sukcinát- permeace přes prasečí sublingvální membránu 12.4.2011

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17$

subling. nemraz.

Donor: PVAsum 10% litá membr.

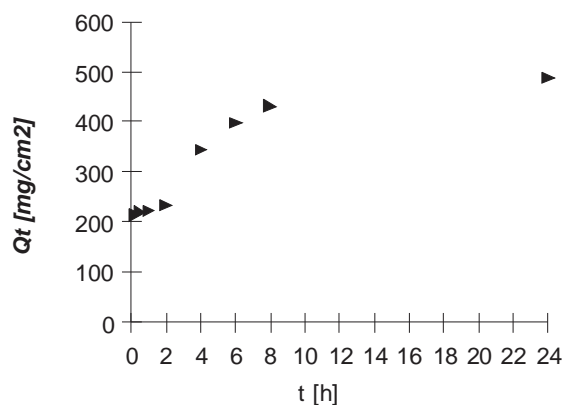
Akceptor: PB7,4

Plocha: 2 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0,25	2,521	0,6	2,521	428,5	214,3
0,5	2,497	1,2	2,586	439,7	219,8
1	2,432	1,8	2,615	444,5	222,3
2	2,470	2,4	2,747	466,9	233,5
4	3,670	3	4,058	689,8	344,9
6	3,962	3,6	4,678	795,3	397,7
8	4,081	4,2	5,072	862,2	431,1
24	4,478	4,8	5,731	974,3	487,2

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,25	214,3	253,9
0,5	219,8	256,9
1	222,3	262,8
2	233,5	274,7
4	344,9	298,4
6	397,7	322,2
8	431,1	345,9
24	487,2	535,9

Parametry lineární regrese	
Počet bodů	n = 8
Flux	J = 11,87
Abs. člen	q = 250,94
Korelační koef.	r = 0,85



Protokol 19

Sumatriptan sukcinát- permeace přes prasečí sublingvální membránu 12.4.2011

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17,1$

subling. nemraz.

Donor: PVASum 10% litá membr.

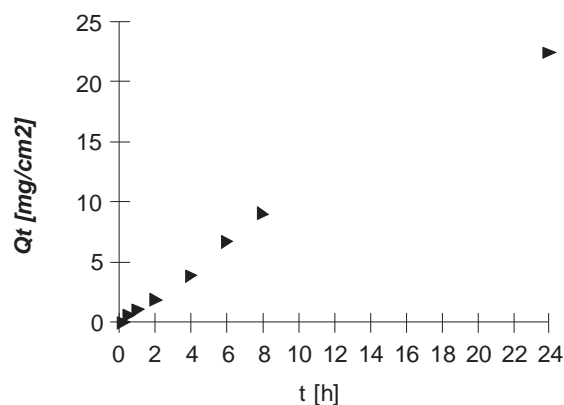
Akceptor: PB7,4

Plocha: 2 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0,25		0,6			
0,5	0,007	1,2	0,007	1,2	0,6
1	0,012	1,8	0,012	2,1	1,0
2	0,021	2,4	0,022	3,8	1,9
4	0,042	3	0,045	7,7	3,8
6	0,070	3,6	0,078	13,4	6,7
8	0,089	4,2	0,105	18,0	9,0
24	0,236	4,8	0,262	44,8	22,4

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,25		
0,5	0,6	0,6
1	1,0	1,0
2	1,9	1,9
4	3,8	3,8
6	6,7	6,7
8	9,0	9,0
24	22,4	22,4

Parametry lineární regrese	
Počet bodů	n = 8
Flux	J = 0,94
Abs. člen	q = 0,3
Korelační koef.	r = 1



Sumatriptan sukcinát- permeace přes prasečí sublingvální membránu 12.4.2011

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1cm^2$

$V_o = 17$

subling. nemraz.

Donor: PVAsum 10% litá membr.

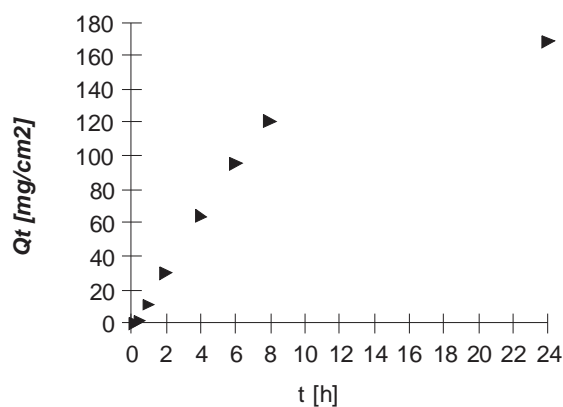
Akceptor: PB7,4

Plocha: 2 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_r
0,25		0,6			
0,5	0,013	1,2	0,013	2,2	1,1
1	0,127	1,8	0,128	21,7	10,9
2	0,340	2,4	0,354	60,1	30,1
4	0,702	3	0,752	127,8	63,9
6	0,991	3,6	1,124	191,0	95,5
8	1,184	4,2	1,422	241,8	120,9
24	1,629	4,8	1,980	336,6	168,3

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,25		22,4
0,5	1,1	24,2
1	10,9	27,7
2	30,1	34,9
4	63,9	49,1
6	95,5	63,3
8	120,9	77,6
24	168,3	191,5

Parametry lineární regrese	
Počet bodů	n = 8
Flux	J = 7,12
Abs. člen	q = 20,63
Korelační koef.	r = 0,9



Protokol 21

Sumatriptan sukcinát- permeace přes prasečí sublingvální membránu 12.4.2011

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1cm^2$

$V_o = 16,8$

subling. nemraz.

Donor: PVAsum 10% litá membr.

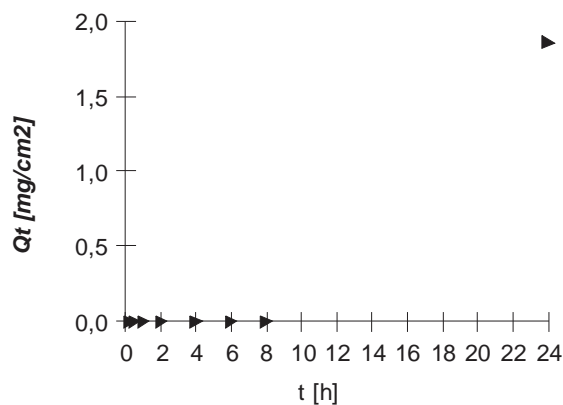
Akceptor: PB7,4

Plocha: 2 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0,25		0,6			
0,5		1,2			
1		1,8			
2		2,4			
4		3			
6		3,6			
8		4,2			
24	0,022	4,8	0,022	3,7	1,9

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,25		-0,2
0,5		-0,2
1		-0,1
2		-0,1
4		0,1
6		0,3
8		0,4
24	1,9	1,7

Parametry lineární regrese	
Počet bodů	n = 8
Flux	J = 0,08
Abs. člen	q = -0,21
Korelační koef.	r = 0,94



Sumatriptan sukcinát- permeace přes prasečí sublingvální membránu 12.4.2011

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1cm^2$

$V_o = 17,6$

subling. nemraz.

Donor: PAAsum 10% litá membr.

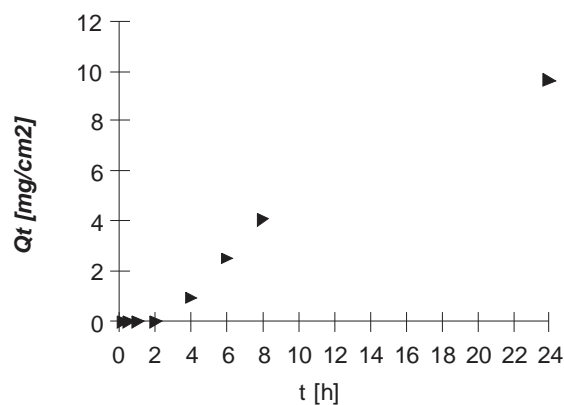
Akceptor: PB7,4

Plocha: 2 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0,25		0,6			
0,5		1,2			
1		1,8			
2		2,4			
4	0,011	3	0,011	1,9	0,9
6	0,027	3,6	0,029	5,1	2,5
8	0,040	4,2	0,046	8,1	4,1
24	0,098	4,8	0,109	19,3	9,6

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,25		-0,2
0,5		-0,1
1		0,1
2		0,6
4	0,9	1,4
6	2,5	2,3
8	4,1	3,1
24	9,6	9,9

Parametry regrese	
Počet bodů	n = 8
Flux	J = 0,42
Abs. člen	q = -0,27
Korelační koef.	r = 0,99



Protokol 23

Sumatriptan sukcinát- permeace přes prasečí sublingvální membránu 12.4.2011

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 16,9$

subling. nemraz.

Donor: PAAsum 10% litá membr.

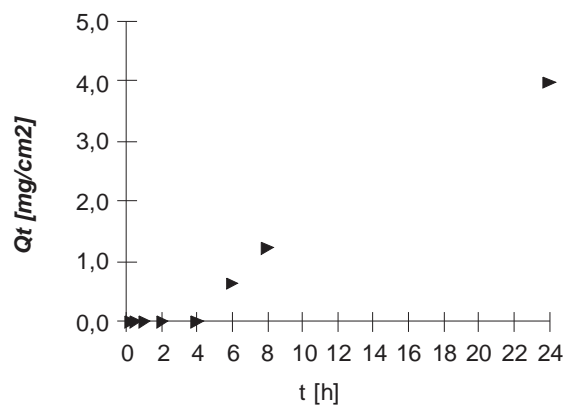
Akceptor: PB7,4

Plocha: 2 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0,25		0,6			
0,5		1,2			
1		1,8			
2		2,4			
4		3			
6	0,008	3,6	0,008	1,3	0,6
8	0,013	4,2	0,014	2,4	1,2
24	0,044	4,8	0,047	8,0	4,0

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,25		-0,2
0,5		-0,2
1		-0,1
2		0,1
4		0,4
6	0,6	0,8
8	1,2	1,1
24	4,0	3,9

Parametry lineární regrese	
Počet bodů	n = 8
Flux	J = 0,17
Abs. člen	q = -0,26
Korelační koef.	r = 0,99



Protokol 24

Sumatriptan sukcinát- permeace přes prasečí sublingvální membránu 12.4.2011

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 17,8$

subling. nemraz.

Donor: PAAsum 10% litá membr.

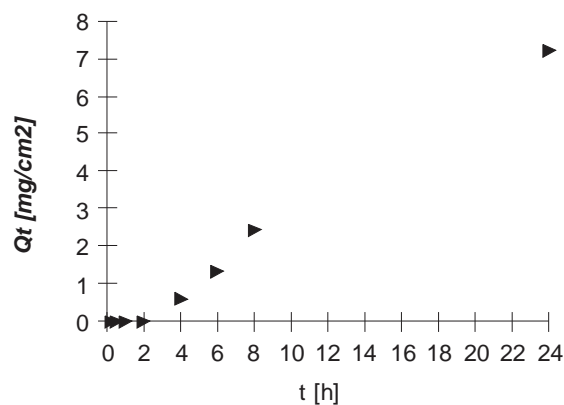
Akceptor: PB7,4

Plocha: 2 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0,25		0,6			
0,5		1,2			
1		1,8			
2		2,4			
4	0,007	3	0,007	1,2	0,6
6	0,014	3,6	0,015	2,7	1,3
8	0,024	4,2	0,027	4,9	2,4
24	0,075	4,8	0,081	14,4	7,2

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,25		-0,3
0,5		-0,2
1		0,0
2		0,3
4	0,6	0,9
6	1,3	1,5
8	2,4	2,2
24	7,2	7,2

Parametry lineární regrese	
Počet bodů	n = 8
Flux	J = 0,31
Abs. člen	q = -0,35
Korelační koef.	r = 1



Sumatriptan sukcinát- permeace přes prasečí sublingvální membránu 12.4.2011

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1cm^2$

$V_o = 16,6$

subling. nemraz.

Donor: Roztok 6% (30mg/0,5ml) PB7,4

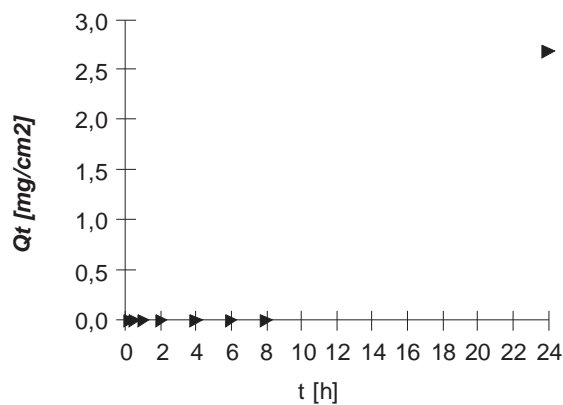
Akceptor: PB7,4

Plocha: 2 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0,25		0,6			
0,5		1,2			
1		1,8			
2		2,4			
4		3			
6		3,6			
8		4,2			
24	0,032	4,8	0,032	5,4	2,7

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,25		-0,3
0,5		-0,3
1		-0,2
2		-0,1
4		0,1
6		0,4
8		0,6
24	2,7	2,4

Parametry lineární regrese	
Počet bodů	n = 8
Flux	J = 0,11
Abs. člen	q = -0,31
Korelační koef.	r = 0,94



Sumatriptan sukcinát- permeace přes prasečí sublingvální membránu 12.4.2011

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1cm^2$

$V_o = 19,1$

subling. nemraz.

Donor: Roztok 6% (30mg/0,5ml) PB7,4

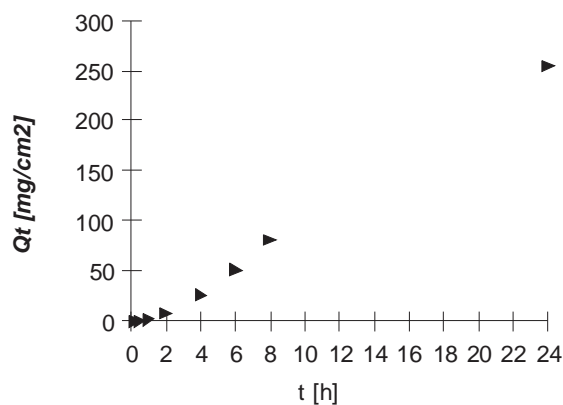
Akceptor: PB7,4

Plocha: 2 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0,25		0,6			
0,5		1,2			
1	0,018	1,8	0,018	3,3	1,7
2	0,078	2,4	0,079	15,2	7,6
4	0,264	3	0,274	52,3	26,2
6	0,492	3,6	0,535	102,2	51,1
8	0,744	4,2	0,845	161,4	80,7
24	2,482	4,8	2,668	509,5	254,7

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,25		-7,2
0,5		-4,4
1	1,7	1,0
2	7,6	12,0
4	26,2	33,9
6	51,1	55,8
8	80,7	77,7
24	254,7	253,1

Parametry lineární regrese	
Počet bodů	n = 8
Flux	J = 10,96
Abs. člen	q = -9,93
Korelační koef.	r = 1



Sumatriptan sukcinát- permeace přes prasečí sublingvální membránu 12.4.2011

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1cm^2$

$V_o = 17,5$

subling. nemraz.

Donor: Roztok 6% (30mg/0,5ml) PB7,4

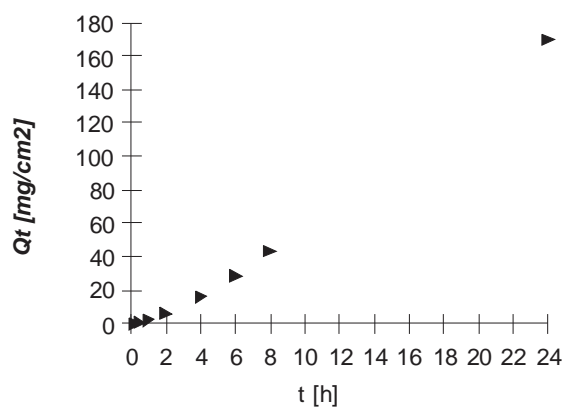
Akceptor: PB7,4

Plocha: 2 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0,25		0,6			
0,5	0,008	1,2	0,008	1,5	0,7
1	0,023	1,8	0,024	4,2	2,1
2	0,065	2,4	0,068	11,8	5,9
4	0,173	3	0,182	31,9	15,9
6	0,295	3,6	0,326	57,1	28,5
8	0,425	4,2	0,492	86,1	43,1
24	1,824	4,8	1,942	339,8	169,9

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,25		-6,3
0,5	0,7	-4,4
1	2,1	-0,8
2	5,9	6,4
4	15,9	20,9
6	28,5	35,3
8	43,1	49,8
24	169,9	165,4

Parametry lineární regrese	
Počet bodů	n = 8
Flux	J = 7,23
Abs. člen	q = -8,06
Korelační koef.	r = 1



Sumatriptan sukcinát- permeace přes prasečí sublingvální membránu 12.4.2011

V_o	[ml]
t	[h]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
Q_t	[μg] ve $V_o / 1cm^2$

$V_o = 16,8$

subling. nemraz.

Donor: Roztok 6% (30mg/0,5ml) PB7,4

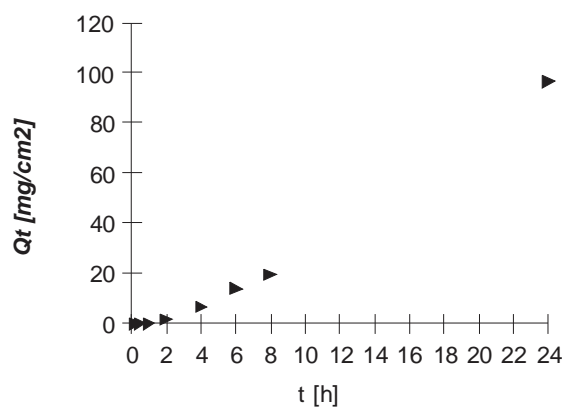
Akceptor: PB7,4

Plocha: 2 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
0,25		0,6			
0,5		1,2			
1		1,8			
2	0,018	2,4	0,018	3,1	1,5
4	0,076	3	0,079	13,2	6,6
6	0,151	3,6	0,165	27,7	13,9
8	0,197	4,2	0,232	39,0	19,5
24	1,092	4,8	1,150	193,2	96,6

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,25		-5,3
0,5		-4,3
1		-2,2
2	1,5	1,9
4	6,6	10,2
6	13,9	18,4
8	19,5	26,7
24	96,6	92,7

Parametry lineární regrese	
Počet bodů	n = 8
Flux	J = 4,13
Abs. člen	q = -6,33
Korelační koef.	r = 0,99



6 VÝSLEDKY A DISKUZE

Preparace sublingvální membrány z jazyka vyžadovala velmi jemné a šetrné zacházení se skalpelem. Vzorky membrány je nutné opticky kontrolovat nejen při odstraňování veškeré svalové hmoty, ale také po upevnění do permeačních komůrek. V nich je rizikem rovněž kontaminace permeační plochy sublingvální membrány fixačním silikonovým tukem. Osvědčilo se opatrné sejmutí membrán po skončení permeačního pokusu se závěrečnou kontrolou celistvosti obou ploch membrán.

Sumatriptan sukcinát vykazuje podle literatury dvě absorpční maxima, a to při 282,7 nm a při 227,4 nm.²⁵ Retenční čas sumatriptanu sukcinátu při 227,4 nm je příliš rušen vlivy látek, které se podle poznatků z citované práce, věnované transdermální permeaci, nacházely v kožní membráně. Z toho důvodu byla ve zmiňované práci zvolena vlnová délka 282,7 nm.²⁵ S ohledem na to byla pro stanovení sumatriptanu v této diplomové práci zvolena vlnová délka 283 nm.

Pro všechna testovaná donorová média sumatriptanu sukcinátu, tedy umělou slinu o pH 6,8, fosfátový pufr pH 7,4 a čištěnou vodu, platilo, že při průtokové rychlosti 1 ml/min a teplotě 25 °C byl retenční čas sumatriptanu vždy okolo 4,6 minuty. Při HPLC stanovení byl tedy sumatriptan sukcinát rozpuštěn a ve všech médiích ionizován acetonitrilovou mobilní fází o pH 3,0 a vynášen jako látka hydrofilní povahy ven z kolony v poměrně krátkém čase. Zvláště výhodná byla varianta 6 mg sumatriptanu sukcinátu doplněno fosfátovým pufrem 7,4 do 100 ml, při průtokové rychlosti 1,5 ml/min a teplotě 30 °C, kdy retenční čas analytu při 283 nm vlnové délky odpovídal 3,1 minutě. HPLC parametry této varianty byly považovány za zcela vyhovující a použity pro rychlé sériové stanovení ve vzorcích z permeačních a liberačních pokusů. Chemicko-analytická data z HPLC jsou uložena v databázi laboratoře katedry.

Výběr kapalných donorových vehikul pro sumatriptan sukcinát primárně postihuje acidobazické charakteristiky, které mohou při průniku této látky přes sublingvální membránu hrát konkrétní významnou úlohu. Skríníngovým přístupem vybrané hodnoty pH na úrovni 6,8 resp. 3,4 a 7,4 mají fyziologické opodstatnění. Přitom umožňují usoudit na jejich vliv z pohledu ionizace a následné permeace antimigrenózně působícího kationtu sumatriptanu.

Umělá slina byla použita pro částečnou simulaci in vivo podmínek v dutině ústní. Volba umělé slinné tekutiny bez organických součástí v tomto směru představovala možnost zaznamenat případnou nežádoucí interakci anorganických iontů. Orientačně

bylo pomocí HPLC v rámci předpokusů zjištěno, že umělá slina nezpůsobuje degradaci či chemickou modifikaci sumatriptanu v časovém úseku 1 dne, což bylo pro plánované permeační i liberační pokusy považováno za dostačující. Látky anorganické povahy obsažené v umělé slině nezpůsobovaly maskování či překrývání se s píkem, který odpovídal sumatriptanu, ani další chromatografické potíže. Bylo tedy možné zjistit přesný retenční čas i plochu pod píkem sumatriptanu sukcinátu obsaženého v umělé slině.

Získané výsledky z permeací jsou v potřebné úplnosti prezentovány v protokolech části **5. Dokumentace**. K jejich zpracování z koncentračních údajů získaných z HPLC stanovení sumatriptanu byla využita k danému účelu na katedře vytvořená vlastní výpočetní šablona.²⁶ Její pomocí byl nekorigovaný koncentrační údaj sumatriptanu přepočten na údaj korigované koncentrace C_k , která zohledňuje průběžný odběr vzorků a doplňování čisté akceptorové fáze o objemu ΔV_{dop} , včetně rozdílných objemů akceptorové fáze v permeačních buňkách na počátku pokusu V_o . Plocha exponované kůže činila 1 cm², resp. 2 cm².

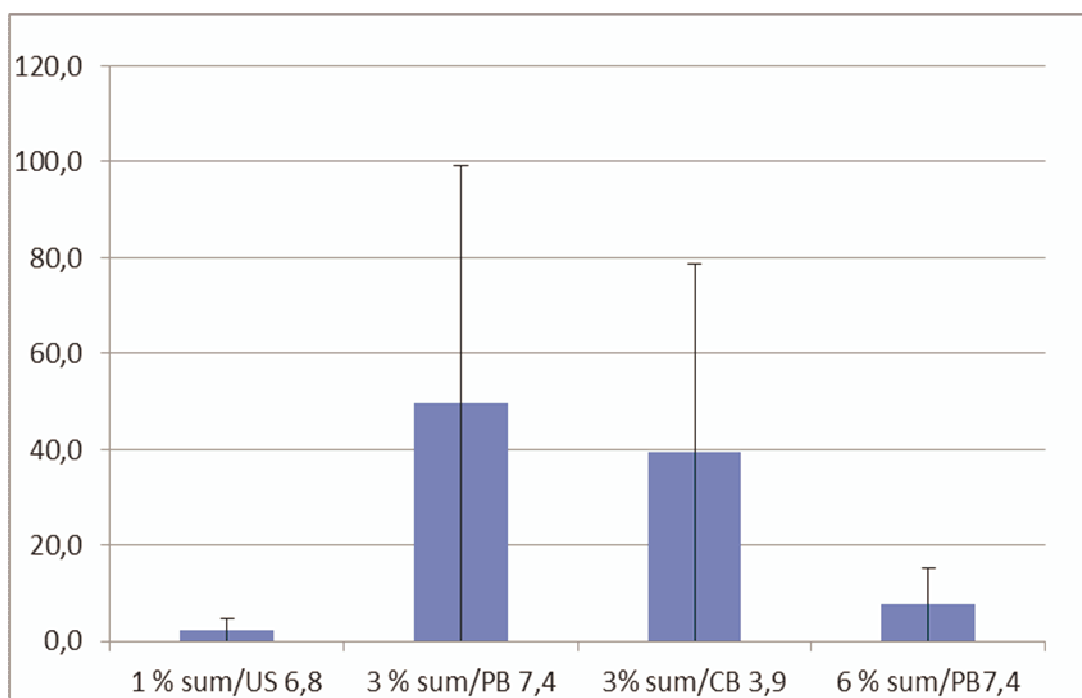
Donor	počet bodů n	flux J [μg/h/cm ²]	průměr J [μg/h/cm ²]	sm. odch SD	kor. koef. r
Sumatr.sukcinát 10mg/1ml US 6,8	6	1,02	2,4	2,2	0,99
	7	1,4			0,99
	7	0,71			0,99
	5	2,73			0,96
	6	6,04			0,98
Sumatr.sukcinát 30mg/0,5ml PB7,4	6	11,19	7,7	3,4	0,99
	7	7,33			0,99
	5	4,44			0,99
	8	0,11			0,94
Sumatr.sukcinát 30mg/1ml PB7,4	5	22,89	49,6	43,6	0,98
	6	115,07			0,99
	5	10,83			0,99
	4	0,7			0,95
Sumatr.sukcinát 30mg/1ml CB3,9	4	6,3	39,3	26,5	0,95
	4	71,86			0,98
	4	1,43			0,9
	7	11,74			-0,44

Tab. 6.1: Souhrné výsledky permeace sumatriptanu sublingvální membránou z kapalných vehikul

Získané údaje byly dále vyjádřeny množstvím sumatriptanu, který prostoupil sublingvální membránou do akceptorového média Q_t [μg] a jako množství permeantu prošlého plochou membrány do akceptorové fáze Q_t [μg/cm²]. Následně byla vynesena kumulativní časová závislost množství prošlého sumatriptanu a s využitím metody

lineární regrese vypočteny příslušné hodnoty směrnic rovnovážného průběhu permeace. Tyto hodnoty číselně odpovídají hodnotám fluxů J [$\mu\text{g}/\text{h}/\text{cm}^2$]. Využit byl při tom vždy lineární úsek příslušné časové závislosti. Počet bodů n zahrnutých do lineární regrese je vyznačen v příslušném sloupci tabulky.

Naměřené hodnoty fluxů sumatriptanu z kapalných vehikul, tedy pro umělou slinu s pH 6,8 (US 6,8), fosforečnanový pufr pH 7,4 (PB 7,4) a citrátový pufr pH 3,9 (CB 3,9), jsou shrnuty v **Tab. 6.1** Při pohledu na uvedené prvotní výsledky, jak jsou graficky prezentovány na **Obr. 6.1** lze říci, že ve sloupcích znázorněné hodnoty fluxu sumatriptanu jsou sice velmi kolísavé, avšak ukazují na jeho snadný průnik.



Obr.6.1: Permeace sumatriptanu z kapalných vehikul sublingvální membránou in vitro

Pro další pokusy je důležitou informací, přestože zatím nikoli statisticky významnou, především to, že koncentrace sumatriptanu v kapalině, která je v přímém kontaktu se sublingvální membránou, sice hraje roli, která ovšem nemá jednoduše aditivní charakter. Totéž lze říci o vlivu pH:

1. Permeace z méně koncentrovaného 3% fosfátového pufru vykazuje vyšší hodnoty fluxu než z 6 % vehikula.
2. Vliv aktuální acidity vehikula, které je v kontaktu se sublingvální membránou, se rovněž nejeví v daném intervalu jako podstatná.

Příprava litých membrán s obsahem sumatriptanu sukcinátu nečinila žádné praktické problémy. Dispergace polymerů a rozpuštění sumatriptanu popsáním postupem bylo již dříve pro případy jiných excipientů a jiných API vyzkoušeno v laboratořích katedry farmaceutické technologie .

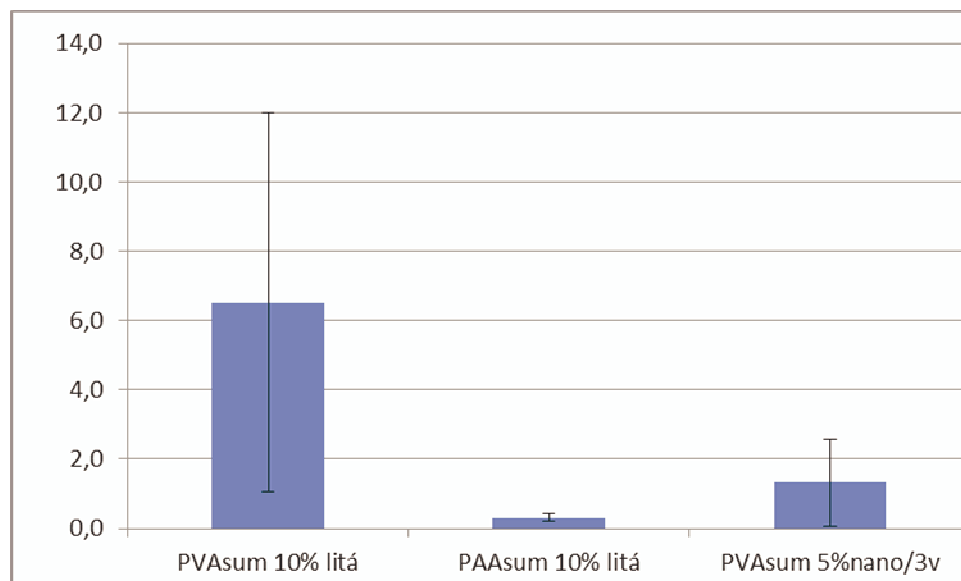
Výroba vzorků nanovláknenných membrán byla po realizační stránce kompletně prací firmy Elmarco Liberec. Pouze volba polymerů a problematika gramáže membrán vycházela z konzultací s pracovníky FaF UK. Detailní informace o výrobních charakteristikách nanovláknenných membrán jsou uchovány u výrobce a na katedře farmaceutické technologie FaF UK jsou k dispozici. Z podstatných údajů se jedná především o plošnou hmotnost membrán, podíl jednotlivých polymerů v kombinovaných membránách a podíl sumatriptanu sukcinátu v dílčích vrstvách kombinovaných nanomembrán, tloušťku vláken, případně porozitu. Tyto údaje budou sloužit k dalšímu zpracování a následnému využití výsledků permeace a liberace, na jejichž získání je především zaměřena tato diplomová práce.

Získané výstupní permeační výsledky z polymerních membrán PVA a PAA jsou souhrnně uvedeny v **Tab. 6.2**.

Donor	počet bodů n	flux J $\mu\text{g/h/cm}^2$	průměr. Flux J $\mu\text{g/h/cm}^2$	směr.odch SD	korel. koef. r
PVAsum 10% litá membr.	8	11,87	6,5	5,5	0,81
	7	0,93			1
	7	6,77			0,89
	8	0,08			0,94
PAAsum 10% litá membr.	4	0,19	0,29	0,07	0,99
	5	0,33			1
PVAsum5% nano 3vrstvá	5	0,92	1,3	1,3	0,98
	4	0,31			0,79
	6	2,73			0,99
	7	0,03			0,72

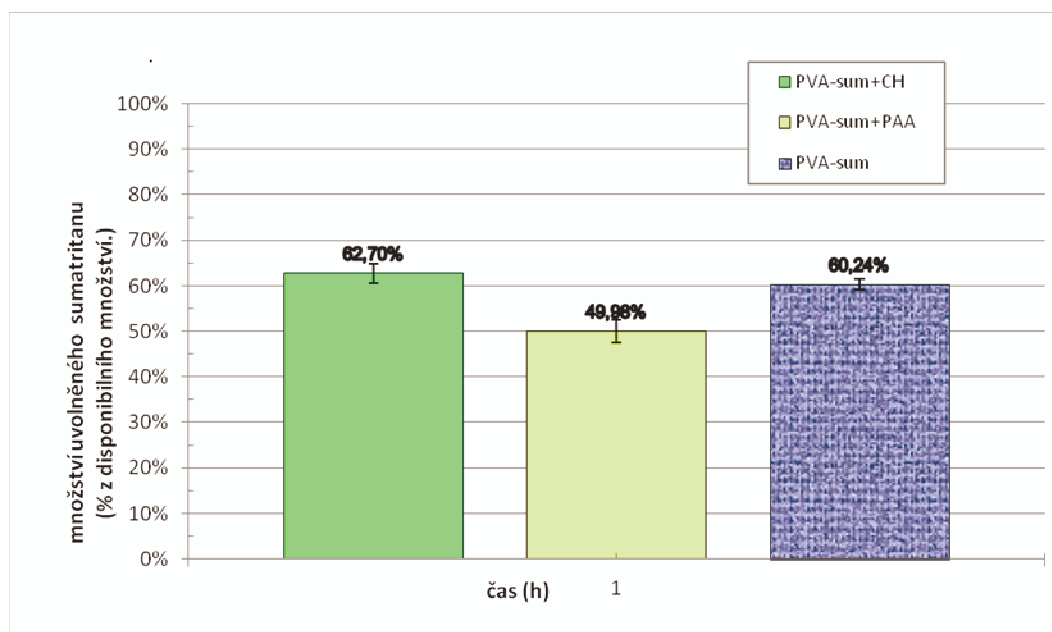
Tab. 6.2: Souhrnné výsledky permeace sumatriptanu z polymerních membrán

Hodnoty, které byly pro svoji extrémnost z výpočtu průměrného fluxu vyloučeny, jsou v tabulce vyznačeny kurzívou. Celkový pohled na výsledky získané v této části pokusů jsou potom prezentovány na **Obr. 6.2**. Z něj je především zřejmé, že permeace z litých polyvinylalkoholových membrán (PVAsum10%litá) je jednoznačně vyšší než z analogických membrán z polyakrylátových PAA membrán.



Obr. 6.2: Permeace sumatriptanu in vitro z polymerních membrán sublingvální membránou

Zajímavé je rovněž do jisté míry potvrzení toho, že z litých membrán se sumatriptan uvolňuje mnohem pomaleji a méně než z nanovláknenných membrán. Ve sloupcích vynesené hodnoty fluxů jsou nejvýše na úrovni jednotek. A to přesto, že gramáž vzorku 3 vrstevné nanovláknenné membrány byla asi pětikrát nižší. Tento závěr má však spíše kvalitativní charakter, a tak především potvrzuje jinak obecně přijímaný předpoklad.



Obr. 6.3: Liberace sumatriptanu sukcinátu z nanovláknenných membrán po 24 hodinách

Na závěrečném **Obr. 6.3** je uveden hlavní výsledek liberačního pokusu, který byl zaměřen na odhad procentuálního množství sumatriptanu uvolnitelného z nanovlákných membrán. Jako „teoretické maximum“ byl brán údaj výrobce o podílu sumatriptanu v sušině polymeru nanomembrány. Z naměřených údajů je patrné, že se celkově uvolnitelné množství ve všech případech pohybovalo kolem 50 %, což by v případě dalších praktických úvah mohlo být nedostačující.

7 ZÁVĚRY

Po preparaci sublingválních membrán přineslo následné hodnocení permeace sumatriptanu in vitro tyto hlavní výsledky:

1. Nejvyšší transmukozální flux sumatriptanu byl naměřen pro 3% roztok ve fosforečnanovém pufru pH 7,4 a citronanovém pufru pH 3,9 na úrovni 50, resp 40 $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$. Výrazně snižena byla permeace z 1% roztoku v umělé slinné tekutině.
2. Vlivy koncentrace a pH kapalného vzorku nelze na základě pokusu zatím jednoznačně popsat.
3. Důležité výsledky přineslo vyhodnocení fluxů sumatriptanu při permeaci z polymerních membrán:
 - 3.1 Velmi nízké hodnoty fluxů poskytly lité membrány z PAA s obsahem 10 % sumatriptanu $J = 0,29 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1} \pm 0,07$.
 - 3.2 Naopak překvapivě vysoké byly hodnoty fluxu z PVA s obsahem 10 % sumatriptanu v lité membráně $J = 6,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$ a 5 % sumatriptanu v nanovlákněné membráně $J = 1,3 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$.
4. Celkově uvolnitelné množství sumatriptanu z testovaných 3 nanomembrán v jednoduchém liberačním pokusu činilo vždy více než 50 % API. Konkrétně u PVA-chitosanové nanomembrány a PVA nanomembrány asi 60 % z celkově inkorporovaného množství a asi 50 % u PVA nanomembrány z jedné strany pokryté PAA.

8 POUŽITÉ ZKRATKY A SYMBOLY

API – účinná substance (Active pharmaceutical ingredients)

mOsm – miliosmoly

PVP K 30 – Polyvinylpyrrolidon

DMSO 3% - Dimethylsulfoxid 3%

IC 50 % - Koncentrace API, která způsobila pokles ve frekvenci lízání vody o 50 %

LITERATURA

-
1. *Český lékopis 2009*, 3. Vyd.; Grada: Praha, **2009**; s. 3234.
 2. Sumatriptan. DRUGDEX® Evaluations. *Micromedex*. **2012**. http://www-thomsonhc-com.ezproxy.is.cuni.cz/micromedex2/librarian/ND_T/evidencexpert/ND_PR/evidencexpert/CS/EEBD5A/ND_AppProduct/evidencexpert/DUPLICATIONSHIELDSYNC/A39E21/ND_PG/evidencexpert/ND_B/evidencexpert/ND_P/evidencexpert/PFActionId/evidencexpert.IntermediateToDocumentLink?docId=1346&contentSetId=31&title=SUMATRIPTAN&servicesTitle=SUMATRIPTAN (04. 10. 2012).
 3. Martindale. *The Complete Drug Reference Edition 36*. Pharmaceutical Press: London, **2009**; s. 3712.
 4. Lincová, D.; Farghali, H. *Základní a aplikovaná farmakologie*. 2. Vyd.; Galen: Praha, **2007**; s. 330 – 331.
 5. Lüllmann, H.; Mohr, K.; Hein, L. *Barevný atlas farmakologie*, 5. Vyd.; Grada: Praha, **2007**; s. 336 – 337.
 6. Bigal, M. E.; Bordini, C. A.; Antoniazzi, A. L.; Speciali, J. G. The Triptan Formulations: a Critical Evaluation. *Neuro-Psiquiatr.* **2003**, 61 (2A), 313 – 320. <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-282X2003000200032&lng=en&nrm=iso> (02. 26. 2012).
 7. Derry C. J.; Derry, S.; Moore, R. A. Sumatriptan (Rectal Route of Administration) for Acute Migraine Attacks in Adults. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. **2012**, 2. <http://summaries.cochrane.org/CD009664/sumatriptan-rectal-route-of-administration-for-acute-migraine-attacks-in-adults> (02. 26. 2012).
 8. Shidhaye, S; Saindane, N; Sutar, S; Kadam,V. Mucoadhesive Bilayered Patches for Administration of Sumatripan Succinate. *Pharm. Sci. Tech.* **2008**, 9 (3), 909 – 916.
 9. Mastík, J. Migréna. 1. Vyd.; *Farmakoterapie pro praxi*; Maxdorf: Praha, **2007**; s. 9 – 18, 42 – 59.
 10. Mastík, J. Je migréna progresivní onemocnění? *Neurologie pro praxi*. **2010**, 11 (3), 191 – 194.

-
11. Madhav, S.; Shakya, A. K.; Shakya, P.; Singh, K. Orotransmucosal Drug Delivery Systems. *J. Control. Release.* **2009**, 140 (1), 2 – 11.
 12. Dixit, R. P.; Puthli, S. P. Oral Strip Technology: Overview and Future Potential. *J. Control. Release.* **2009**, 139, 94 – 107.
 13. Salamat-Miller, N.; Chittchang, M.; Johnston, T. P. The Use Of Mucoadhesive Polymers in Buccal Drug Delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2005**, 57, 1666 – 1691.
 14. Patel, V. F.; Fang, L.; Brown, M. C. Advances in Oral Transmucosal Drug Delivery. *J. Control. Release.* **2011**, 153 (2), 106 – 116.
 15. Bhalodia, R.; Basu, B.; Garala, K.; Joshi, B.; Mehta, K. Buccoadhesive Drug Delivery Systems: A Review. *Int. J. Pharm Bio Sci.* **2010**, 1 (2).
 16. Andrews, G. P.; Lavery, T. P.; Jones, D. S. Mucoadhesive Polymeric Platforms for Controlled Drug Delivery. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2009**, 71, 505 – 518.
 17. Shaikh, R.; Raj Singh, T. R.; Garland, M. J.; Woolfson, A. D.; Donnelly, R. F. Mucoadhesive Drug Delivery Systems. *J Pharm. Bioall. Sci.* **2011**, 3, 89-100.
 18. Bernkop-Schnürch, A. Mucoadhesive Systems in Oral Drug Delivery. *Drug Discovery Today: Technologies.* **2005**, 2 (1), 83 – 87.
 19. Hearnden, V.; Sankar, V.; Hull, K.; Juras, D. V.; Greenberg, M.; Kerr, A. R.; Lockhart, P. B.; Patton, L. L.; Porter, S.; Thornhill, M. H. New Developments and Opportunities in Oral Mucosal Drug Delivery for Local and Systemic Disease. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2011**, 64 (1), 16 – 28.
 20. Fern-Ng, S.; Rouse, J. J.; Sanderson, F. D.; Meidan, V.; Eccleston, G. M. Validation of a Static Franz Diffusion Cell System for In Vitro Permeation Studies. *AAPS Pharm. Sci. Tech.* **2010**, 11 (3), 1432 – 1441.
 21. Balusu, H.; Veerareddy, P. R. Formulation and Evaluation of Fast Disintegrating Zolmitriptan Sublingual Tablets. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy.* **2012**, 6 (1), 84 – 98.
 22. Bayrak, Z.; Tas, C.; Tasdemir, U.; Erol, H.; Ozkan, C. K.; Savaser, A.; Ozkan, Y. Formulation of Zolmitriptan Sublingual Tablets Prepared by Direct Compression with Offerent Polymers: In Vitro and in Vivo Evaluation. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2011**, 78, 499 – 505.

-
23. Bhat, M. G.; Jordt, R. M.; Khan, M. A.; Foley, Ch. E.; Gilbertson, T. A. Validation of a Rat Behavioral Avoidance Model from a Drug Delivery Perspective. *Int. J. Pharm.* **2005**, 303 (1 - 2), 31 – 36.
24. Nozal, M. J.; Bernal, J. L.; Toribio, L.; Martín, M. T.; Diez, F. J. Development and Validation of an LC Assay for Sumatriptan Succinate Residues on Surfaces in the Manufacture of Pharmaceuticals. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **2002**, 30, 285 – 291.
25. Femenía-Font, A.; Merino, V.; Rodilla, V.; Lopez-Castellano, A. High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Sumatriptan after in Vitro Transdermal Diffusion Studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **2005**, 37 (3), 621 – 626.
26. Doležal, P., Klemra, P., Svozil M., Berka P. Zpracování výsledků permeací. Výpočetní šablona 4.2011 v aplikaci Excel **2010**. Farmaceutická fakulta UK v Hradci Králové